

Hybrid molecules for treatment of cancers

Patent number: FR2764605
Publication date: 1998-12-18
Inventor: METHA GOVERDHAM; MAIYA BHASKAR GUNDMI;
MUTHUSAMY SENGODAGOUNDER; CHANON
MICHEL; JULLIARD MICHEL
Applicant: UNIV HYDERABAD (IN)
Classification:
- **international:** C07D487/22; C07D487/22; A61K31/40; C07D305/14;
A61K31/335; C07D207/335; C07D257/00
- **europaean:** C07D487/22
Application number: FR19980007228 19980609
Priority number(s): IN1997CA01305 19970617

Report a data error here

Abstract of **FR2764605**

a) The preparation of hybrid molecules of formulae (2) and (3), by reaction of a Zn(II), Sn(IV) or Al(III) derivative of a porphyrin or phthalocyanin with taxol or baccatine III, in the presence of an anhydrous polar solvent at 0 - 120 deg C, is new. One of R1 and R2 = H and the other = -CO-O-P, -OCH2-CO-O-P, or -(CH2)2-CO-O-P R3 = -CO-O-P, -OCH2-CO-O-P, or -(CH2)2-CO-O-P, P = a metal derivative of a porphyrin (a) or of a phthalocyanin (b) X = phenyl, methylphenyl, chlorophenyl, or naphthyl, M = Zn(II), Sn(IV) or Al(III). b) Compounds of formulae (2) in which R1 = CO-P or CO-CH2-O-P, P = a porphyrin group in which the metal is not present and X = methyl phenyl, compounds of formula (2) in which R2 = -CO-CH2-O-P, P = a porphyrin group in which the metal is not present and X = methyl phenyl, and compounds of formula (3) in which R3 = -CO-CH2-O-P, P = a porphyrin group in which the metal is not present and X = methyl phenyl, are claimed per se.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 09.06.98.

③③ Priorité : 17.06.97 IN 00130597.

④③ Date de mise à la disposition du public de la demande : 18.12.98 Bulletin 98/51.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été établi à la date de publication de la demande.*

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦① Demandeur(s) : UNIVERSITY OF HYDERABAD — IN et UNIVERSITE DE DROIT D'ECONOMIE ET DES SCIENCES D'AIX-MARSEILLE III — FR.

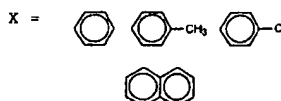
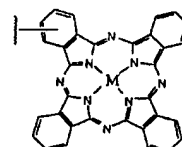
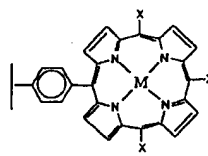
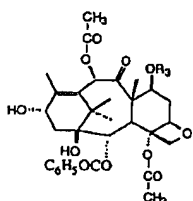
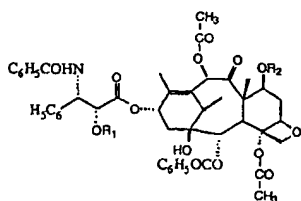
⑦② Inventeur(s) : METHA GOVERDHAM, MAIYA BHASKAR GUNDMI, MUTHUSAMY SENGODAGOUNDER, CHANON MICHEL et JULLIARD MICHEL.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : RINUY SANTARELLI.

⑤④ MOLECULES HYBRIDES D'UN PHOTOSENSIBILISATEUR ET D'UN AGENT CHIMIOTHERAPEUTIQUE, LEUR PROCEDE DE PRODUCTION ET LEUR APPLICATION COLLATERALE EN CHIMIOTHERAPIE ET THERAPIE PHOTODYNAMIQUE.

⑤⑦ Les molécules répondent aux formules générales 2 et 3:



et M=Zn(II), Al(III)Cl, Sn(IV)Cl₂.

Ces molécules sont utiles dans l'application collatérale de la chimiothérapie classique et de la thérapie photodynamique (PDT) contre le cancer et des affections apparentées

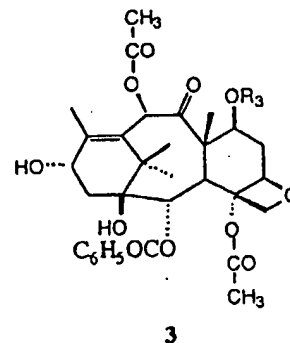
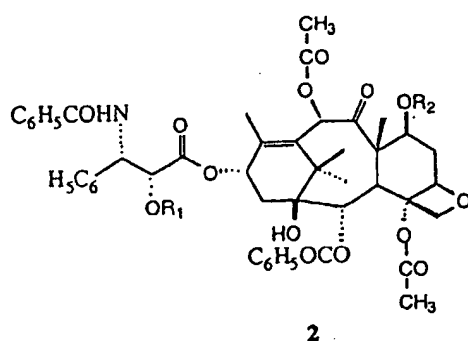
dans lesquelles
R₁ représente un groupe -CO-O-P, -OCH₂CO-O-P, -O(CH₂)₂CO-O-P et
R₂ représente H, ou bien
R₁ représente H, et R₂ représente un groupe -CO-O-P, -OCH₂CO-O-P, -O(CH₂)₂CO-O-P et
R₃ représente aussi -CO-O-P, -OCH₂CO-O-P, -O(CH₂)₂CO-O-P.
Dans tous les cas, P peut représenter



La présente invention concerne de nouvelles molécules "hybrides" d'un photosensibilisateur et d'un agent chimiothérapique. Les molécules hybrides répondent aux formules générales 2 et 3 représentées ci-dessous.

5

10



dans lesquelles

15 R_1 représente un groupe $-\text{CO}-\text{O}-\text{P}$, $-\text{OCH}_2\text{CO}-\text{O}-\text{P}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)\text{CO}-\text{O}-\text{P}$ et

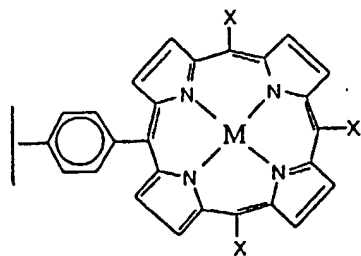
R_2 représente H, OU BIEN

R_1 représente H, et R_2 représente un groupe $-\text{CO}-\text{O}-\text{P}$, $-\text{OCH}_2\text{CO}-\text{O}-\text{P}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CO}-\text{O}-\text{P}$ et

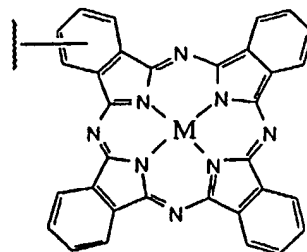
20 R_3 représente aussi $-\text{CO}-\text{O}-\text{P}$, $-\text{OCH}_2\text{CO}-\text{O}-\text{P}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{CO}-\text{O}-\text{P}$.

Dans tous les cas, P peut représenter

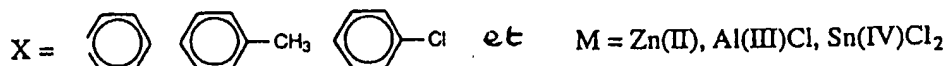
25



ou



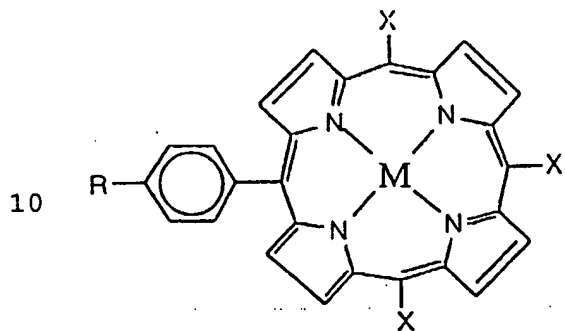
30 où



35

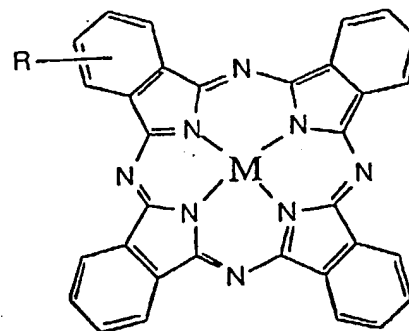
et $M = \text{Zn(II)}, \text{Al(III)Cl}, \text{Sn(IV)Cl}_2$.

Le photosensibilisateur utilisé dans le procédé de la présente invention peut être choisi parmi des macrocycles tétrapyrroliques, tels que des porphyrines, des phtalocyanines et leurs dérivés métalliques (zinc(II), étain(IV), aluminium(III)) de formules générales 4 et 5



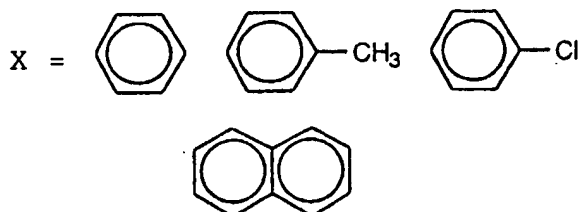
4

et



5

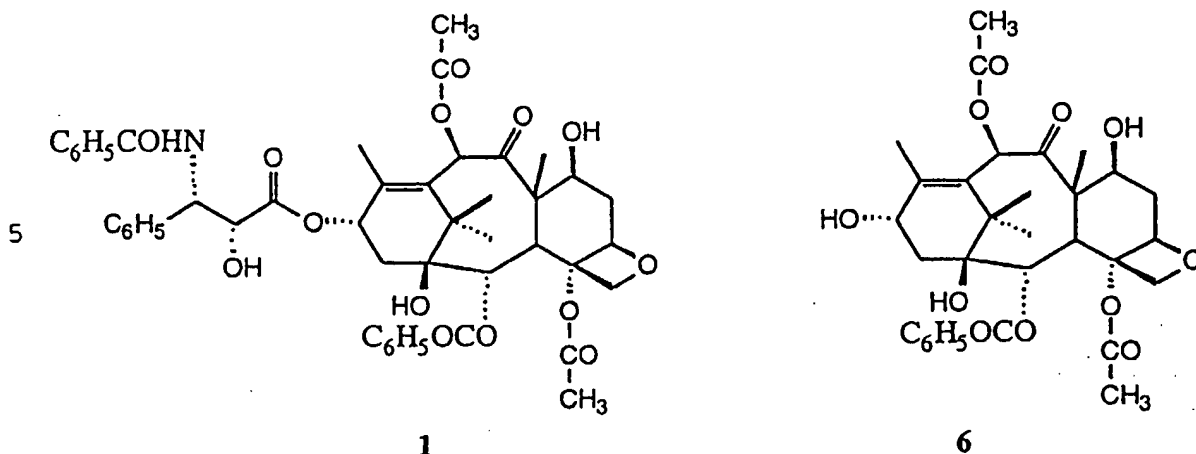
15 où R représente COOH , OCH_2COOH ou $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$, et



et $\text{M} = \text{Zn(II)}, \text{Al(III)Cl}, \text{Sn(IV)Cl}_2$.

25 L'agent chimiothérapique utilisé peut être choisi entre le taxol (paclitaxel : {6,12b-bis(acétyloxy)-12-benzoyloxy)-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-dodécahydro-4,11-dihydroxy-4a,8,13,13-tétraméthyl-5-oxo-7,11-méthano-1H-cyclodéca[3,4]benz[1,2-b]oxét-9-yl(- (benzoyl-amino)-hydroxy)benzène propionate[2aR-[2a,4,4a,6,9-

30 (R*,S*),11,12,12a,12b]}) de formule 1 et la baccatine III de formule 6.



10

Ces nouvelles molécules "hybrides" de la présente invention sont utiles en application collatérale comprenant la chimiothérapie classique et la thérapie photodynamique (PDT) d'émergence récente contre le cancer et d'autres troubles alliés. Ces hybrides, tout en permettant la poursuite de la thérapie classique sous la médiation de médicaments chimiothérapeutiques en présence ("éclairage") et en l'absence ("arrêt d'éclairage") de lumière, permettent à la condition thérapeutique photodynamique de prévaloir lors de l'irradiation dans les bandes d'absorption de l'agent photosensibilisant avec la lumière visible. On s'attend donc à ce que des effets synergiques en direction de l'éradication de la tumeur prédominent pendant la période d'irradiation. Comme cas spécial offrant un intérêt, les hybrides porphyrine-taxol peuvent être appliqués à la fois dans la chimiothérapie sous la médiation du taxol et dans la PDT sous la médiation de la porphyrine. En outre, ces nouvelles molécules hybrides affinent l'aptitude de la porphyrine à diriger la cellule/le tissu cancéreux en raison de sa conjugaison au taxol dont on reconnaît, d'autre part, l'aptitude à se localiser dans le domaine riche en tubuline du tissu cancéreux.

La thérapie photodynamique (PDT), impliquant l'action de la lumière sur un photosensibilisateur pour générer la puissante entité cytotoxique que constitue

l'oxygène singulet (ou une autre forme réactive d'oxygène) qui mène finalement à la tumeur nécrosante, est explorée à l'heure actuelle comme modalité en variante pour la radiothérapie et la chimiothérapie dans le traitement du cancer. La PDT implique l'administration systémique d'un photosensibilisateur, c'est-à-dire d'un composé photosensible qui est lui-même thérapeutiquement inactif en l'absence de la lumière, mais qui devient actif après son accumulation préférentielle dans le tissu tumoral et l'absorption de lumière de longueur d'onde comprise entre environ 600 et 800 nm. L'administration du photosensibilisateur est suivie d'une période d'incubation et d'éclairement à la lumière visible. La lésion ou tumeur peut être détectée par la fluorescence émise par le photosensibilisateur accumulé lorsqu'il est excité par de la lumière visible, et la tumeur peut être supprimée par l'action cytotoxique d'oxygène singulet qui est produit par le transfert d'énergie de triplet à triplet entre le photosensibilisateur triplet à l'état excité et l'oxygène triplet à l'état fondamental. Théoriquement, le traitement de tumeurs par PDT requiert donc la présence d'un photosensibilisateur qui possède les caractéristiques importantes ci-après :

- (i) il doit s'agir d'un composé simple, stable et non toxique, de structure chimique connue, qui est retenu avec un haut degré de sélectivité dans des tumeurs malignes comparativement au tissu normal,
- (ii) il doit avoir un pic de forte absorption dans la partie du spectre où la lumière pénètre le mieux dans le tissu vivant et où l'énergie des photons est encore suffisamment grande pour produire de l'oxygène singulet (c'est-à-dire de 600 à 800 nm),
- (iii) il doit avoir un haut rendement quantique pour sensibiliser la formation d'oxygène singulet (ou d'une autre entité cytotoxique).

La PDT a été décrite pour la première fois en 1976 (Cancer Res. 1976, 38, 2628) et, depuis lors, elle a été mondialement utilisée à titre expérimental dans la thérapie du cancer. La PDT est basée sur des observations publiées dans J. Natl. Cancer. Inst., 1961, 26, 1, selon lesquelles une hématorporphyrine (HpD) qui a des propriétés fluorescentes est sélectivement absorbée par un tissu malin. Par la suite, des études décrites dans Ann. Surg. 1968, 167, 829, ont indiqué qu'un dérivé d'hématorporphyrine était absorbé par une grande variété de carcinomes et de sarcomes aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Le potentiel thérapeutique réel du traitement à l'HpD d'un cancer du sein à métastases avec la lumière a été révélé pour la première fois en 1966 (Proc. IX Int. Cancer Congress, 1966, 393). En 1975, la revue J. Natl. Cancer Inst. 1975, 55, 115, a rapporté l'efficacité de la PDT dans l'éradication d'une tumeur mammaire transplantée chez des souris et, en 1976, la revue J. Urol. 1976, 155, 150, a rapporté une réponse tumorale positive au traitement d'une tumeur de la vessie chez un patient traité par injection de HpD, par délivrance endoscopique de lumière par un tube de verre pour transmission de lumière. Depuis lors, de nombreux essais cliniques utilisant la HpD ont été rapportés, couvrant essentiellement toutes les tumeurs solides accessibles à la surface de la peau ou par voie endoscopique.

On connaît divers composés agissant comme photosensibilisateurs : HpD, disponible sous la dénomination Photofrin I ou sa version plus purifiée Photofrin II[®] (Porphyrins in tumor therapy, Andreoni et al., eds. ; Plenum Press : New York, pages 23-35), qui sont les premiers photosensibilisateurs approuvés cliniquement, mis au point par Quadra Logic Technologies and Lederie Laboratories. Il est connu que ces photosensibilisateurs consistent en un mélange de monomère et de dimères et d'oligomères supérieurs de HpD possédant des liaisons

éther/ester (Chemistry in Britain, 1986, 430). Malgré la large application diagnostique et thérapeutique potentielle de la PDT en oncologie clinique, plusieurs inconvénients sont liés à l'utilisation de la HpD (ou Photofrin II) parce

5 que l'on n'a pas entièrement compris quel composant ou quels composants actifs sont responsables de la fixation et de la rétention par des tumeurs (Prog. Clin. Biol. Res. 1984, 170, 301 ; Photodynamic therapy of tumours and other diseases, G. Jori & C. Perria, eds. ; 1985 : pages 1-7). En

10 outre, on a observé également la sélectivité limitée de ces photosensibilisateurs envers des tumeurs, la pénétration limitée de la lumière dans les tissus lors d'un traitement à la suite de l'administration de HpD par injection systémique, et la rétention limitée par des tissus malins.

15 L'autre inconvénient majeur des photosensibilisateurs dérivés de HpD est la phototoxicité envers la peau. En vue d'éviter une phototoxicité cutanée à la suite du traitement avec un photosensibilisateur, un patient doit rester en sous-exposition à la lumière pendant 4 à 6 semaines après

20 l'administration de HpD.

Ces problèmes ont eu pour conséquence que des efforts considérables ont été déployés en vue de mettre au point des photosensibilisateurs nouveaux ayant des maximums d'absorption accrus dans la plage de 600 à 800 nm, afin

25 d'augmenter l'efficacité de la lumière et d'obtenir de même une meilleure pénétration dans les tissus à de plus grandes longueurs d'ondes. Des efforts ont aussi été consacrés à l'amélioration de l'absorption et de la rétention de photosensibilisateurs par les tumeurs malignes et à

30 l'accroissement leurs rendements quantiques vis-à-vis de l'oxygène singulet.

Plusieurs classes nouvelles de photosensibilisateurs pouvant être utilisés dans la PDT proviennent de tétrapyrroles et de leurs dérivés. Par exemple, des

35 macrocycles tétrapyrroliques synthétiques, à savoir : l'étioporphyrine, les benzochlorines, les rhodines, les

verdines, les porphycènes, ont montré des résultats très prometteurs dans la PDT (pour un exposé complet, voir : Seminars in Hematology, 1989, 26, 157 ; Chem. Soc. Rev. 1995, 19). Des systèmes nouveaux formés de texaphyrine tripyrrolique (Acc. Chem. Res. 1994, 27, 43) et de pentapyrine et sapphyrine pentapyrroliques (J. Phys. Chem. 1990, 94, 3597) sont aussi considérés comme une génération nouvelle de photosensibilisateurs de PDT. Bien que ces composés semblent posséder des maximums de longueur d'onde d'absorption autour de 700-850 nm, certains d'entre eux sont hautement instables, et ne sont pas très convenables ni pratiques à des fins diagnostiques et thérapeutiques. Les phthalocyanines et leurs dérivés constituent une autre classe de photosensibilisateurs nouveaux à l'étude (Chem. Soc. Rev. 1995, 19). Leur structure est apparentée à celle de porphyrines naturelles, mais comporte quatre motifs insoindole liés par des atomes d'azote aza au lieu des jonctions méthine présentes dans les porphyrines. Ces composés montrent une forte absorption dans plage de 650 à 700 nm, et certains dérivés non métalliques, tout comme certains dérivés métalliques, manifestent des processus photochimiques efficaces en rapport avec la PDT.

La mono-aspartyl-chlorine E_6 (MACE) et un composé apparenté, la di-L-aspartyl-chlorine e_6 (DACE), qui possèdent de fortes bandes d'absorption avec un haut coefficient d'extinction moléculaire à 664 nm, sont aussi des composés très prometteurs comme agents de PDT de seconde génération (J. Natl. Cancer Inst. 1988, 80, 330). La purpurine et la chlorine- p_6 , deux dérivés de la chlorophylle (Photochem. Photobiol. 1988, 48, 579) se sont montrés de puissants photosensibilisateurs qui activent la destruction des cellules par la lumière rouge de faible intensité. Récemment, une classe nouvelle de composés, à savoir des dérivés de chlorophylle a sont apparus comme de très puissants photosensibilisateurs (Photochem. Photobiol. 1988, 48, 579).

Bien que beaucoup de ces photosensibilisateurs de seconde génération soient des générateurs efficaces d'oxygène singulet et présentent aussi une forte absorption dans la région translucide des tissus, ils souffrent généralement d'inaptitude à s'accumuler dans des tumeurs. Une façon possible de circonvenir le problème de la faible accumulation d'un médicament donné à base de porphyrine dans les cellules consiste à doter le médicament d'un élément de reconnaissance intracellulaire, par exemple un ADN ou un agent se fixant à la membrane. Ainsi, des conjugués de porphyrine dotés d'un oligonucléotide (J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1995, 181 ; Photochem. Photobiol. 1994, 60, 316 ; Bioconjugate Chem. 1990, 2, 108 ; FEBS Lett. 1990, 259, 335), un anticorps monoclonal (Tetrahedron 1995, 51, 2137 ; Inorg. Chem. 1995, 34, 1070), l'ellipticène (J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1989, 1711 ; Tetrahedron 1989, 45, 2641 ; Biochemistry 1990, 29, 7868) ou d'autres éléments de reconnaissance intracellulaire (Tetrahedron Lett. 1995, 36, 4227 ; J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1995, 1809 ; Tetrahedron Lett., 1993, 45, 7263 ; Tetrahedron Lett. 1983, 24, 1523), ont été rapportés récemment. Les aspects clés de ces hybrides en rapport avec la présente invention sont résumés ci-dessous.

Les oligodoxynucléotides (ODN) sont considérés comme des outils nouveaux dans l'inhibition sélective de l'expression de gènes et comme médicaments potentiels dans la thérapie anticancéreuse ou antivirale. Des effets photochimiques induits dans un ARN 24-mère par un ODN anti-sens complémentaire qui est en liaison de covalence avec une porphyrine, ont récemment été rapportés (Photochem. Photobiol. 1994, 60, 316). On a observé que des conjugués ODN-porphyrine induisaient des réactions de réticulation spécifiques des séquences sur l'ARN de VIH cible, et que les porphyrines bases libres étaient plus efficaces que les dérivés de zinc. Des anticorps monoclonaux ont été utilisés pour cibler l'ADN, parce

qu'ils ont la propriété de localisation dans des cellules tumorales (Principles of Cancer Biotherapy, publié sous la direction de R.K. Oldham, Raven : New York ; 1987). La forte interaction des anticorps avec des porphyrines a aussi été étudiée en ce qui concerne l'utilisation de ces conjugués dans la PDT (Tetrahedron 1995, 51, 2137 ; Inorg. Chem. 1995, 34, 1070). En vue d'optimiser l'intercalation du fragment de porphyrine, d'autres agents de liaison ont été attachés à des porphyrines (J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1989, 1711 ; Tetrahedron 1989, 45, 2641 ; Biochemistry 1990, 29, 7868), mais ces conjugués, ainsi que ceux qui sont décrits ci-dessus, ont pour la plupart été utilisés pour cliver l'ADN uniquement par les moyens chimiques.

Un photoclivage de l'ADN a été observé dans des études effectuées avec les porphyrines cationiques (voir par exemple Photochem. Photobiol. 1994, 60, 295 ; Nucleic Acids Res. 1992, 20, 1315 ; Cancer Res., 1981, 41, 3453), avec des dérivés porphyrine-ellipticène (J. Photochem. Photobiol. B : Biology, 1992, 16, 47) ainsi qu'avec les porphyrines "expansées" (J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 3629). Bien qu'il ait été démontré que les dérivés porphyrine-ellipticène effectuaient le photoclivage de l'ADN avec une efficacité cinquante fois supérieure à celle de l'hématoporphyrine, des essais témoins ont suggéré que la porphyrine non liée était en elle-même capable de photoclivrer l'ADN de façon marginale seulement. Dans une étude récente utilisant une épreuve à l'ADN de plasmide pBR322, les capacités de photoclivage de porphyrines expansées, à savoir le complexe lutétium(III)texaphyrine et la sapphyrine non métallée, ont été comparées (J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 3629). Plus récemment, un photoclivage spécifique ciblé d'ADN sous la médiation de complexes sapphyrine-ODN a été rapporté (J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 12322).

Un examen critique des commentaires ci-dessus suggère que les faibles taux observés de nécrose tumorale par certains des photosensibilisateurs nouveaux de "seconde génération" sont en rapport avec leur inaptitude relative à s'accumuler sélectivement dans des tumeurs. Comme mentionné en préambule, un moyen possible permettant de circonvenir le problème de la faible accumulation d'un médicament donné à base de porphyrine dans les cellules, consiste à doter le médicament d'un élément de reconnaissance intracellulaire. Cette approche a le pouvoir de fournir un meilleur moyen de ciblage des tumeurs, attendu que l'élément de reconnaissance intracellulaire annexé peut, en principe, améliorer l'aptitude du médicament à s'accumuler dans la tumeur. On s'attend également à ce que le médicament modifié soit plus efficace, même à de faibles concentrations, dans le clivage de l'ADN par des moyens photochimiques ou par d'autres moyens. Ainsi, comme décrit ci-dessus, des conjugués de porphyrine dotés d'un oligonucléotide, d'un anticorps monoclonal, d'un ellipticine ou d'autres éléments de reconnaissance intracellulaire ont été rapportés récemment. Néanmoins, on a observé que la plupart de ces conjugués de porphyrine n'effectuaient le clivage d'ADN que par des moyens chimiques, et très peu d'efforts semblent avoir été consacrés à l'induction du photoclivage d'ADN par l'utilisation de ces photosensibilisateurs modifiés. En outre, l'utilisation d'un médicament anticancéreux à usage clinique comme partenaire dans les hybrides formés entre un photosensibilisateur et un élément de reconnaissance intracellulaire destinés à être utilisés dans la thérapie du cancer, n'a jamais été testée jusqu'à présent.

La demanderesse a effectué des travaux dans le domaine de la PDT avec pour objectif de préparer des systèmes nouveaux porphyrine-intercalateur et porphyrine-agent chimiothérapique doués d'activité de photonucléase. A la suite d'efforts visant à conférer à des photosensibi-

lisateurs de PDT une plus grande aptitude à pénétrer dans les tissus, la demanderesse a récemment fait connaître, dans une série de publications (J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1993, 2667 ; Tetrahedron Lett., 1994, 35, 4201 et J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1995, 295) les aspects en rapport avec la PDT de porphyrines en liaison de covalence avec d'autres entités moléculaires douées d'un pouvoir biologique qui possèdent des attributs "additifs" tels que la reconnaissance intracellulaire, la sélectivité envers des tissus et des organes, etc. Plus particulièrement, la demanderesse a révélé la synthèse, la photochimie et l'activité de nucléase de quatre nouvelles séries de photosensibilisateurs dans lesquelles une porphyrine est liée par des longueurs et des types variables de ponts de covalence (segments espaceurs ou segments de liaison) à un intercalateur d'ADN (par exemple acridone, phénothiazine ou acridine) ou à un médicament chimiothérapique (par exemple chlorambucil, médicament anti-leucémique que l'on trouve couramment dans le commerce). Il a été observé, au cours de ces études, que l'efficacité de coupures présentée par les hybrides porphyrine-chlorambucil (P-Chl) était de loin la meilleure parmi tous les composés préparés jusqu'à présent par la demanderesse. Cette observation, liée au fait que les hybrides P-Chl peuvent, en principe, agir également comme les médicaments chimiothérapiques même en l'absence de lumière, ont engagé la demanderesse à développer l'approche impliquant la mise en œuvre du thème "double action" qui comprend une application collatérale de la photothérapie et de la chimiothérapie.

En conséquence, dans encore une autre étude (J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1996, 2421), la demanderesse a rapporté une série de nouvelles porphyrines qui sont liées à un seul sous-motif (P-col-Chl) ou à deux sous-motifs (P-col-Chl₂) chlorambucil, par l'intermédiaire d'une plate-forme d'acide cholique (col). La sous-unité d'acide cholique a été utilisée spécialement pour la

construction des hybrides en raison de son aptitude à reconnaître des cellules du foie et à s'y localiser. Des essais d'électrophorèse sur gel ont suggéré que P-col-CHL₂ était plus actif dans son aptitude au clivage de l'ADN comparativement à P-col-Chl ou aux hybrides P-Chl rapportés antérieurement.

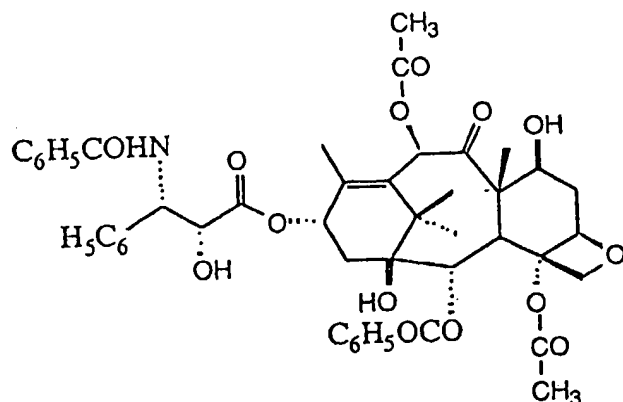
Les considérations qui précèdent suggèrent clairement l'utilité de molécules hybrides consistant en un photosensibilisateur et en un agent chimiothérapeutique. Il est facile de percevoir qu'une telle association de "médicaments photo-actifs et chimio-actifs" était plus utile que l'association de simples hybrides "photosensibilisateur-élément de reconnaissance intracellulaire" dans une application collatérale de chimiothérapie classique et de la thérapie photodynamique d'émergence récente. Cela est dû au fait que ces hybrides, tout en permettant la poursuite de la thérapie classique sous la médiation de médicaments chimiothérapeutiques en présence ("éclairage") et en l'absence ("non-éclairage") de lumière, permettent à la condition thérapeutique photodynamique de prévaloir lors d'une irradiation dans les bandes d'absorption de photosensibilisateurs avec la lumière visible. On s'attend à ce que des effets synergiques en direction de l'éradication de la tumeur prédominent au cours de la période d'irradiation. On s'attend en outre à ce que ces molécules hybrides nouvelles affinent l'aptitude du photosensibilisateur à diriger la cellule/le tissu cancéreux du fait de sa conjugaison au médicament chimiothérapeutique qui, d'autre part, a ordinairement par nature une aptitude à se localiser dans le tissu cancéreux.

Bien que le concept mentionné ci-dessus de l'utilisation d'hybrides photosensibilisateur-agent chimiothérapeutique pour la thérapie anticancéreuse paraisse séduisant, il est important de remarquer que l'activité chimique intrinsèque du médicament

chimiothérapeutique et que l'activité photochimique de l'agent photosensibilisateur dans ces hybrides doivent être inchangées lors de la liaison entre le photosensibilisateur et l'agent chimiothérapeutique. La demanderesse a donc
 5 orienté ses recherches vers la liaison par covalence d'un photosensibilisateur uniquement à ces sites d'un agent chimiothérapeutique, afin de démontrer ainsi que l'activité antitumorale intrinsèque de la partie médicament chimiothérapeutique des molécules liées par covalence ainsi
 10 préparées ne subit pas d'influence défavorable. De même, on a pris suffisamment de précautions pour s'assurer que les propriétés spectrales et photophysiques des agents photosensibilisateurs qui sont nécessaires pour leur activité photodynamique restent essentiellement inchangées,
 15 même lors de leur liaison au médicament chimiothérapeutique.

Sur la base des considérations qui précèdent, et conformément à la présente invention, on a synthétisé une série de porphyrine-taxol, porphyrine-baccatine, métallo-
 20 porphyrine-taxol, métalloporphyrine-baccatine (métal = zinc(II), étain(IV) ou aluminium(III)) et les dérivés de phtalocyanine correspondants. Des exemples appréciés sont ceux d'hybrides porphyrine-taxol et porphyrine-baccatine. Bien que le motif taxol présent dans ces hybrides facilite non seulement
 25 leur localisation dans l'aire riche en tubuline du tissu tumoral, mais serve également de médicament chimiothérapeutique, la partie porphyrine de la molécule, du fait de sa liaison par covalence au taxol, assure la prédominance d'une condition photodynamique, en dedans du
 30 tissu tumoral, dans les conditions de photoirradiation.

Le taxol (placitaxel) de formule 1 {6,12b-bis(acétyloxy)-12-benzoyloxy)-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a-12b-dodécahydro-4,11-dihydroxy-4a,8,13,13-tétraméthyl-5-oxo-7,11-méthano-1H-cyclodéca[3,4]benz[1,2-b]oxét-9-yl-(benzoylamino)-hydroxy)benzènepropionate[2aR-[2a,4,4a,6,9-(R*,S*),11,12,12a,12b]]}



1

a constitué le choix particulier comme agent
chimiothérapeutique pour la préparation d'hybrides
photosensibilisateur-agent chimiothérapeutique du fait que
ce composé est l'un des médicaments chimiothérapeutiques
les plus prometteurs d'emploi courant pour le traitement du
cancer (voir par exemple : Tibtech, 1994, 222 ; *Placitaxel
in cancer treatment* ; publié sous la direction de
W.P. McGuire, et E.K. Rowinsky, Marcel Dekker : New York,
1995 ; *Chemistry in Britain*, 1996, 43). Le placitaxel est
un médicament d'intérêt considérable en raison de son
activité dans un certain nombre d'affections malignes en
médecine humaine, et de sa structure chimique et de son
mécanisme d'action exceptionnels. Ce médicament a été
approuvé par la Food and Drug Administration (Etats-Unis
d'Amérique) pour le traitement de cancers des ovaires et du
sein, et il montre une activité prometteuse dans des
cancers du poumon, de la tête et du cou, de la vessie et de
l'œsophage.

Le placitaxel, initialement isolé de l'écorce
de l'if occidental à croissance lente, *Taxus brevifolia*,
est un diterpène complexe à structure cyclique de taxane
avec un noyau oxétane tétragonal et une chaîne latérale
ester en position C-13. En dehors du taxol densément
fonctionnalisé, la "chaîne latérale" et le groupe
fonctionnel à la partie "inférieure" de la molécule sont

essentiels pour son excellente activité, mais en revanche, la manipulation au niveau des centres C-7, C-9, et C-10 ne réduit pas notablement l'activité du médicament (*Trends in Biotech*, 1994, 222). Toutes les preuves disponibles
5 indiquent que la principale cible intracellulaire pour le placitaxel est le microtubule, organe composé de tubuline et d'hétérodimères de tubuline (*Placitaxel in cancer treatment* ; publié sous la direction de W.P. McGuire et E.K. Rowinsky ; Marcel Dekker : New York, 1995). Lorsqu'on
10 fait incuber des cellules avec du placitaxel, des faisceaux de microtubules physiquement distincts sont formés dans la cellule. Ces faisceaux résultent d'une réorganisation du cytosquelette des microtubules. Les microtubules ne sont pas statiques, mais existent plutôt dans un état
15 d'équilibre dynamique avec leurs sous-unités. On pense que le placitaxel agit en modifiant l'équilibre normal et en le déplaçant en faveur de la formation du polymère des microtubules à partir de ses sous-unités. Des microtubules sont requis pour la réplication et la fonction normales de
20 cellules. Ils constituent un composant majeur du fuseau mitotique et sont absolument essentiels pour une division cellulaire normale. En outre, ils sont nécessaires pour maintenir la forme et la mobilité des cellules, et pour le transport entre organites au sein de la cellule. Par
25 conséquent, un médicament tel que le placitaxel qui modifie le comportement dynamique normal de microtubules, influence de façon spectaculaire le comportement normal et la réplication des cellules. Il est intéressant de noter qu'une série de dérivés de porphyrine chargés négativement
30 se sont aussi montrés aptes à modifier la structure d'ensemble des microtubules (*Photochem. Photobiol.* 1987, 46, 657).

La présente invention est pour l'essentiel une suite logique et importante du thème de "double action" mentionné ci-dessus dans le cadre de l'invention. On lui a
35 trouvé une grande valeur utilitaire pour la synthèse et l'étude de nouveaux hybrides de macrocycles tétra-

pyrroliques, tels que des porphyrines, des phtalocyanines et leurs dérivés métalliques respectifs avec les agents chimiothérapeutiques tels que le taxol, à titre d'exemple préféré. Bien que la description de la présente invention se réfère en particulier à des hybrides porphyrine-taxol 5 exempts de métaux, ayant la porphyrine comme photosensibilisateur et le taxol comme agent chimiothérapeutique, comme expliqué ci-dessus, elle n'est pas limitée à la matière indiquée. Des matières de départ 10 telles que des métalloporphyrines, de même que les phtalocyanines correspondantes et les agents chimiothérapeutiques tels que des dérivés d'anthraquinone et d'anthracycline, peuvent aussi être utilisés pour la préparation de ces hybrides.

15 **DESCRIPTION DE L'INVENTION**

Le principal objectif de la présente invention est de trouver des molécules d'hybride nouvelles entre un photosensibilisateur et un agent chimiothérapeutique de formules 2 et 3, qui soient utiles pour la chimiothérapie et pour la thérapie 20 photodynamique contre le cancer et des maladies apparentées.

Un autre objectif de la présente invention est de proposer un procédé pour la préparation de molécules hybrides nouvelles d'un photosensibilisateur et d'un agent chimiothérapeutique de formules 2 et 3 qui sont utiles pour 25 la chimiothérapie et la thérapie photodynamique contre le cancer et des troubles apparentés et plus généralement dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.

L'invention est basée sur le fait, mis en évidence par la demanderesse, selon lequel lorsqu'un agent 30 photosensibilisateur est amené à réagir avec un agent chimiothérapeutique, des molécules hybrides qui se révèlent utiles pour une application thérapeutique chimiothérapique et photodynamique collatérale dans le traitement contre le cancer et des troubles apparentés, sont produites.

35 En conséquence, la présente invention propose des molécules hybrides nouvelles d'un photosensibilisateur

La présente invention propose donc un procédé de production de nouvelles molécules hybrides d'un photosensibilisateur et d'un agent chimiothérapeutique des formules 2 et 3, qui sont utiles pour la chimiothérapie et la thérapie photodynamique contre le cancer et des maladies apparentées :



Dans tous les cas, P peut représenter

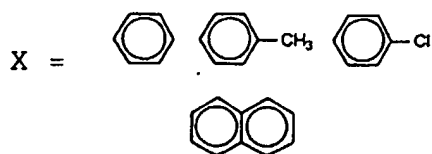


00

35

où

18

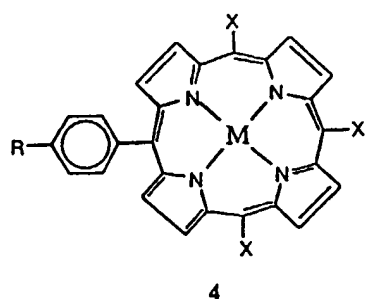


5

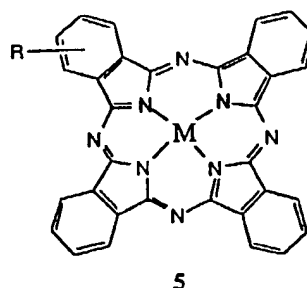
et M = Zn(II), Al(III)Cl, Sn(IV)Cl₂,

Le procédé comprend la réaction de photosensibilisateurs de formules générales 4 et 5

10



et

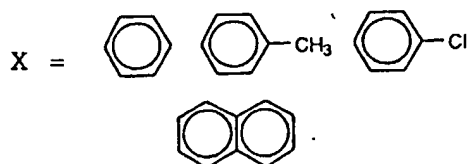


15

dans lesquelles R représente COOH, OCH₂COOH ou O(CH₂)₂COOH,

20

et

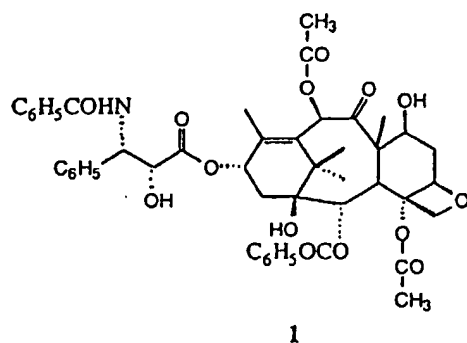


25

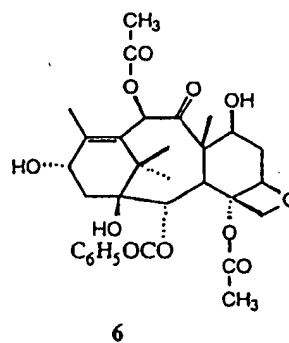
et M = Zn(II), Al(III)Cl, Sn(IV)Cl₂,

et d'agents chimiothérapeutiques de formules générales 1 et 6

30



35

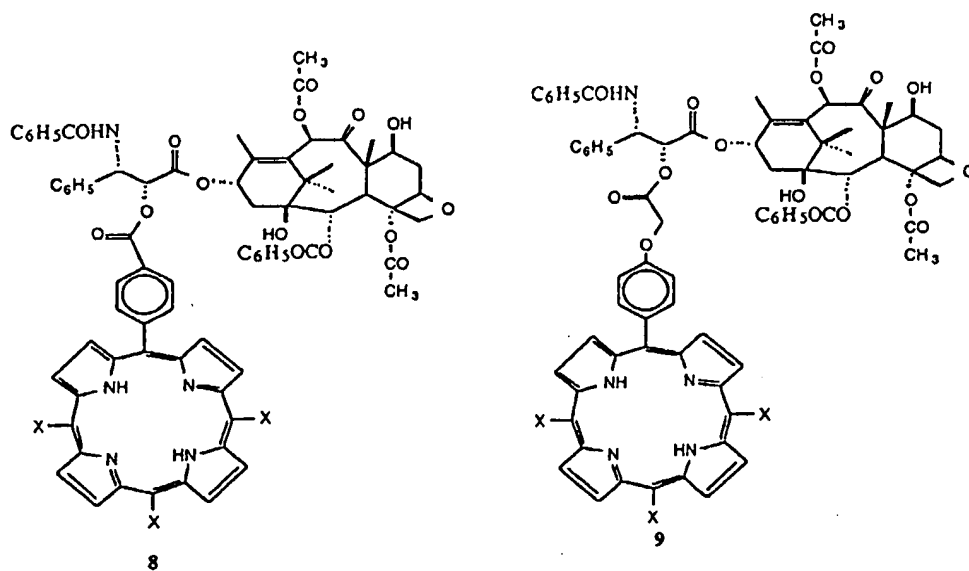


en présence d'un solvant polaire anhydre ou d'un mélange de tels solvants, à une température comprise dans la plage de 0 à 120 °C sous agitation constante et la séparation par des opérations classiques des molécules hybrides formées.

5 Les réactions utilisées dans le procédé de l'invention sont celles que l'on utilise habituellement pour la conduite d'une réaction impliquant la formation de liaisons éther/ester/amide. A titre d'exemples de solvants polaires anhydres utilisés dans le procédé de la présente
10 invention, on peut employer des solvants tels que le diméthylformamide, le chlorure de méthylène, l'acétonitrile, le chloroforme. Certains additifs tels que le dicyclohexylcarbodiimide (DCC), la diméthylaminopyridine (DMAP), K_2CO_3 , peuvent avantageusement être utilisés dans
15 ces réactions pour un couplage efficace des liaisons. La séparation des molécules hybrides formées dans la réaction peut être effectuée par l'un quelconque ou plusieurs des procédés classiques tels que chromatographie sur colonne, distillation, chromatographie sur couche mince, recristal-
20 lisation.

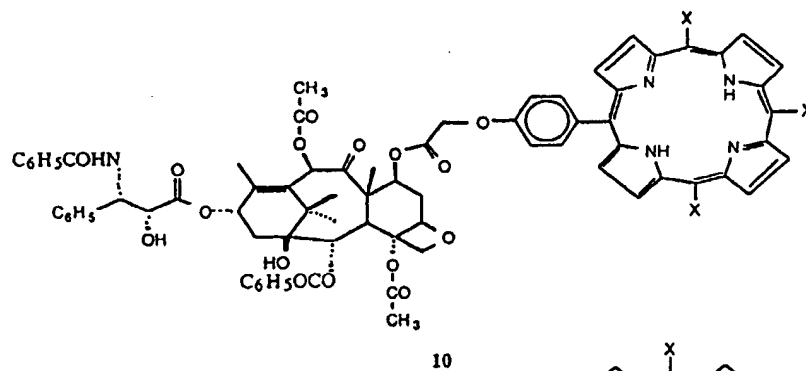
Conformément à la forme de réalisation préférée de l'invention, il est proposé un procédé de production de molécules hybrides nouvelles de formules 8-11, qui sont utiles pour une application chimiothérapique et
25 photodynamique collatérales dans le traitement du cancer et d'affection apparentées :

5



10

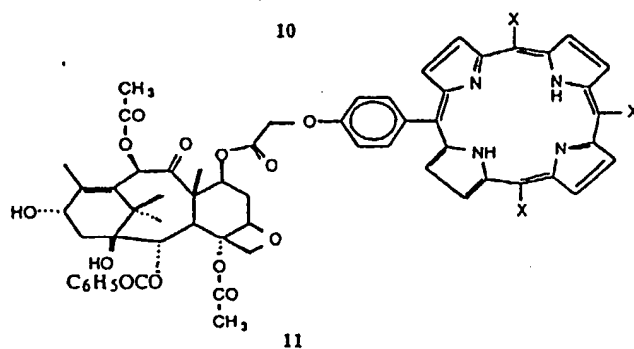
15



20

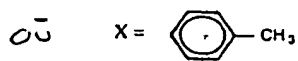
10

25



11

30

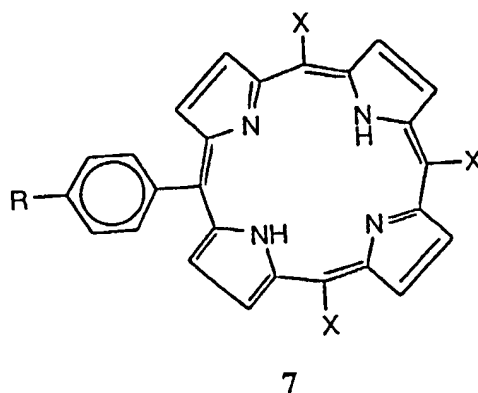


35

procédé qui comprend la réaction des porphyrines répondant à la formule générale 7

5

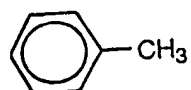
10



dans laquelle R représente COOH , OCH_2COOH ou $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ et

15

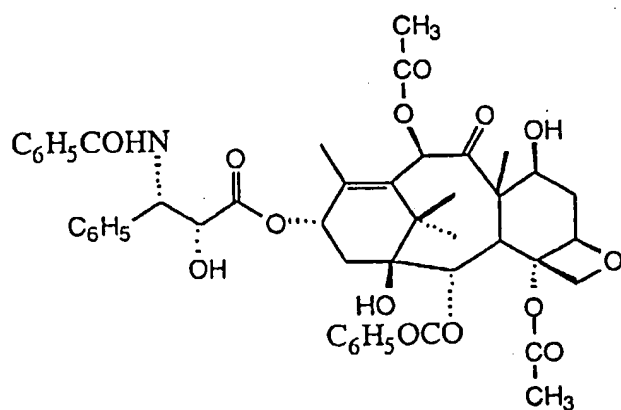
X =



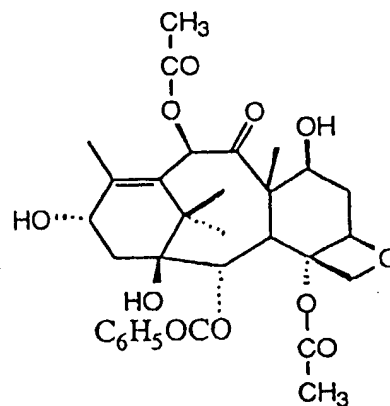
avec le taxol et la baccatine de formules respectives 1 et 6

20

25



1



6

30

en présence d'un solvant polaire anhydre ou d'un mélange de tels solvants, à une température comprise dans la plage de 0 à 120 °C, sous agitation constante, et la séparation par des opérations classiques des molécules hybrides formées.

35

Comme mentionné dans ce qui précède, il est impératif que les caractéristiques individuelles du

photosensibilisateur et du médicament chimiothérapeutique ne soient pas modifiées, même lorsqu'ils sont liés de manière que leurs activités photodynamiques ou chimiothérapeutiques soient retenues dans les hybrides. Cet aspect a été spécialement pris en considération dans la préparation de ces hybrides. Ainsi, de préférence, les groupes hydroxy en positions 2' et 7 du squelette du taxol ont été utilisés pour la liaison par covalence de ce composé à un fragment méso-tétra(aryl)porphyrine.

Les structures des nouveaux hybrides ont été établies par l'application de diverses mesures spectroscopiques et photophysiques, comme décrit ci-dessous pour le cas particulier des hybrides porphyrine-taxol et porphyrine-baccatine.

On a observé que les données spectrales d'absorption électronique et les données de potentiel d'oxydoréduction de ces nouveaux hybrides taxol-porphyrine et baccatine-porphyrine 8, 9, 10 et 11 sont situées dans la même plage que celles des porphyrines de formule 7, et des entités non-porphyrine des formules 1 et 6. En outre, l'analyse des spectres ¹H-RMN suggère que les déplacements chimiques et d'autres caractéristiques spectrales des protons individuels sur la porphyrine ou un hybride taxol-baccatine ne sont pas modifiés dans des hybrides des formules 8, 9, 10 et 11. Par conséquent, les propriétés à l'état de base, à l'obscurité, des composés nouveaux des formules 8, 9, 10 et 11, restent inchangées comparativement aux matières de départ originelles connues des formules 1, 6 et 7, ce qui garantit donc l'activité chimiothérapeutique inchangée de ces composés nouveaux de formules 8, 9, 10 et 11.

Les propriétés photochimiques de la partie photosensibilisateur de chacun des hybrides des formules 8, 9, 10 et 11, ne sont également pas affectées défavorablement lors de leur liaison avec les agents chimiothérapeutiques. Ainsi, les rendements quantiques de

fluorescence (0,11-0,14) des composés de formules 8, 9, 10 et 11, se situent essentiellement dans la même plage que ceux des porphyrines choisies comme modèles de formule générale 7 (0,10-0,13).

5 Un autre paramètre qui décrit l'activité à l'état excité qui est utile dans la PDT est le rendement quantique de l'oxygène singulet. Beaucoup de réactions photochimiques sensibilisées *in vivo* et *in vitro* par une porphyrine paraissent être sous la médiation de 1O_2 qui est
10 produit par le transfert d'énergie de collision, depuis l'état de triplet de la porphyrine, suivi d'un échange de spins. Le 1O_2 , qui est une entité hautement réactive diffuse sur une courte distance avant de réagir avec des biomolécules telles que des membranes cellulaires, des
15 bases nucléotidiques, des lipides non saturés, des résidus d'amino-acides, etc., en donnant des produits de photo-oxydation, ce qui entraîne une altération d'ADN/membrane menant à une photonécrose (Topics in Photomedicine, publié sous la direction de K.C. Smith ; Plenum Press : New York).
20 La demanderesse a observé que le rendement d'oxygène de singulet des hybrides des formules 8, 9, 10 et 11 était essentiellement le même que celui de la méso-5,10,15,20-(tétraphényl)porphyrine (H_2TPP) de référence, ou des porphyrines non liées utilisées comme modèles, de formule
25 générale 7 ($= (0,60 \pm 0,005)$ dans le DMF).

Ces observations suggèrent collectivement que ces nouveaux hybrides dans lesquels un photosensibilisateur tel que décrit ci-dessus est appendu à un agent chimiothérapeutique, comme observé ci-dessus, conservaient
30 des attributs chimiques et photophysiques avantageux, en vue de leur utilisation en chimiothérapie, en thérapie photodynamique, ainsi que dans une thérapie impliquant les deux.

Les détails du procédé de l'invention sont
35 décrits dans les exemples qui suivent, et qui ne sont

donnés qu'à titre d'illustration, et ne doivent donc pas être considérés comme limitant la portée de l'invention.

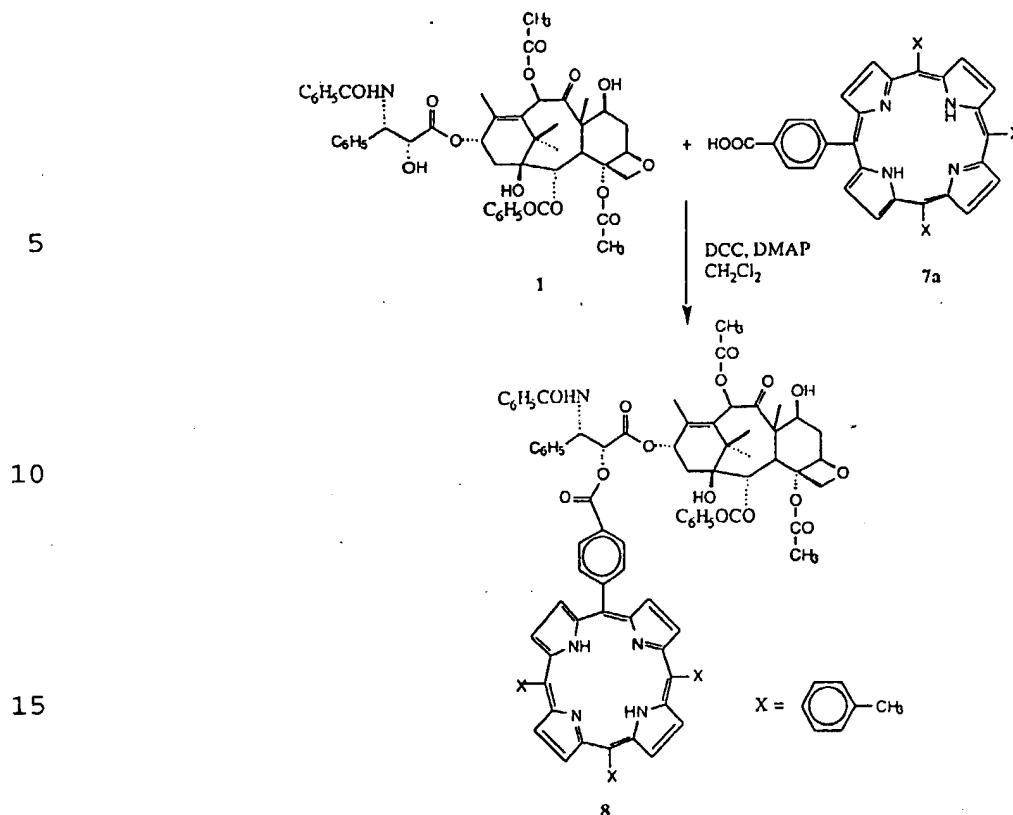
EXEMPLE 1

Synthèse d'un hybride porphyrine-taxol de formule 8 :

5 De la méso-(-4-carboxyphényl)-10,15,20-tri-(tolyl)porphyrine (7a) a été préparée par condensation de pyrrole (4 équivalents molaires) avec du p-tolualdéhyde (3 équivalents molaires) et du 4-carboxybenzaldéhyde (1 équivalent molaire) dans de l'acide propanoïque au
10 reflux. On a fait refluer le mélange pendant 45 minutes, et on l'a maintenu à la température ambiante pendant une nuit. L'acide propanoïque a été éliminé du mélange réactionnel sous pression réduite en laissant un résidu violet-noir, qui a été lavé à l'eau chaude, séché à l'air et
15 chromatographié sur une colonne d'alumine basique avec comme éluant un mélange hexanes/acétate d'éthyle (1:1, en volumes/volume), pour enlever la méso-5,10,15,20-tétra-(tolyl)porphyrine (H_2TPP). La mono(carboxyphényl)-tri-(tolyl)porphyrine (7a) constituant le produit désiré a été
20 élue de la colonne lorsqu'un mélange d'hexanes et d'acétate d'éthyle a été utilisé comme éluant dans un rapport 90:10 (v/v). L'évaporation du solvant sous pression réduite a donné le composé 7a en un rendement de 10 %.

Du dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (6 mg,
25 0,03 mmole) dans du CH_2Cl_2 anhydre (0,5 ml) a été ajouté goutte à goutte à un mélange sous agitation de taxol de formule 1 (9 mg, 0,01 mmole) de porphyrine 7a (14 mg, 0,02 mmole), de diméthylaminopyridine (DMAP) (0,5 mg, 0,004 mmole) et de tamis moléculaire (4A°) dans du CH_2Cl_2
30 anhydre (5 ml) sous azote moléculaire à 0 °C. L'agitation a été poursuivie pendant 15 heures à 25 °C, après quoi le mélange réactionnel a été filtré pour enlever le tamis moléculaire, et le précipité de dicyclohexylurée.

25



20 Le filtrat a été lavé à l'eau, déshydraté sur du Na₂SO₄ anhydre et concentré. Le résidu a été purifié par chromatographie sur du gel de silice en utilisant un mélange d'acétate d'éthyle et d'hexane (1:2, en volume/volume), ce qui a donné l'hybride porphyrine-taxol de formule 8. Rendement : 11 mg, 68 %.

25 Pf. : 238-240 °C

Spectre de masse (FAB) : m/z : C₉₅H₈₅N₅O₁₅ (1536,8) ; M' = 1536.

30 Spectre infrarouge (pastille de KBr) : 3518, 3318, 2924, 1728, 1667, 1605, 1372, 1242, 1181, 1098, 1022, 966, 801, 708 cm⁻¹.

UV-visible (CH₂Cl₂)_{max}, nm (log) : 234 (4,58), 420 (5,54), 516 (4,14), 552 (3,87), 592 (3,58), 647 (3,53).

¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃, TMS)_{ppm} : -2,77 (1, s, 2H, NH), 1,18 (s, 3H, CH₃), 1,30 (s, 3H, CH₃), 1,71 (s, 3H, CH₃), 2,11 (s, 3H, CH₃), 2,26 (s, 3H, CH₃), 2,20-2,70 (m, 4H, 14, & 6-H), 2,57 (s, 3H, CH₃), 2,71 (s, 9H, arom-CH₃), 3,90 (d, J=7Hz,

35

1H, 3-H), 4,23 et 4,35 (d, $J=8,3\text{Hz}$, 2H, C-20H₂), 4,52 (m, 1H, 7-H), 5,02 (1 d, $J=7,8\text{Hz}$, 1H, 5-H), 5,73 (d, $J=7\text{Hz}$, 1H, 2-H), 5,89 (d, $J=3,6\text{Hz}$, 1H, 2'-H), 6,16-6,23 (m, 1H, 3'-H), 6,37 (s, 1H, 10-H), 6,41 (d, 1H, 13-H), 7,16 (d, $J=8,8\text{Hz}$, 1H, NH), 7,40-7,58 (m, 17-H), 7,85 (d, $J=8\text{Hz}$, 2H), 8,10 (d, $J=7,8\text{Hz}$, 6H), 8,17 (d, $J=8\text{Hz}$, 2H), 8,36 (dd, $J=8,4\text{Hz}$, 4,4Hz, 4H), 8,73-8,90 (m, 8H, H de pyrrole).

Fluorescence (CH₂Cl₂)_{max}, nm (rendement quantique) : 652,717 (0,12).

10 Rendement quantique en oxygène singulet (DMF) : 0,64.

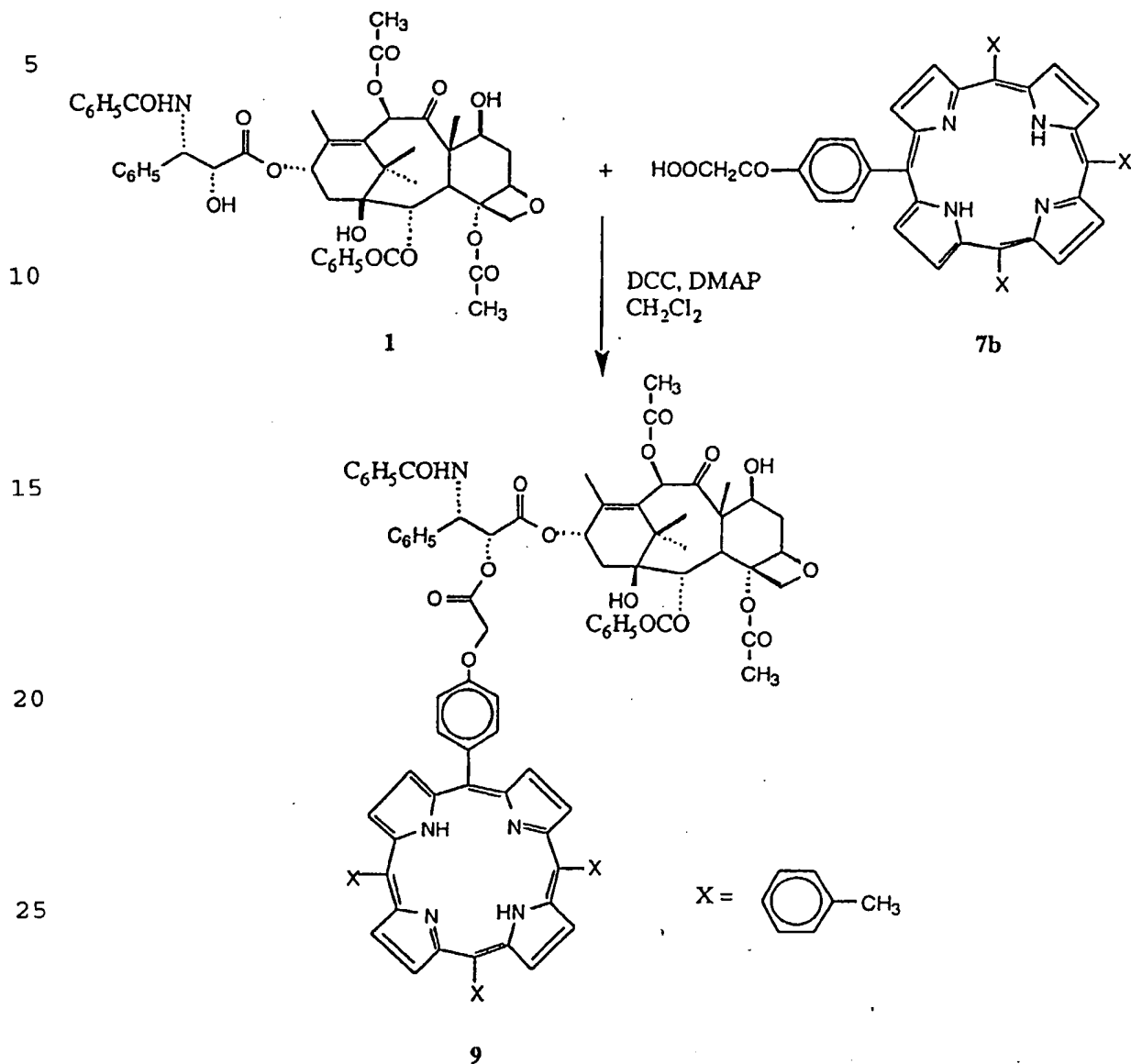
EXEMPLE 2

Synthèse de l'hybride porphyrine-taxol de formule 9 :

On a préparé la méso-5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tri(tolyl)porphyrine en condensant du pyrrole (4 équivalents molaires) avec du p-tolualdéhyde (3 équivalents molaires) et du 4-hydroxybenzaldéhyde (1 équivalent molaire) dans de l'acide propanoïque au reflux. On a traité le mélange réactionnel et on l'a purifié par chromatographie sur colonne, comme décrit ci-dessus pour le composé 7a, ce qui a donné l'hydroxyporphyrine désirée en un rendement de 10 %. La réaction de la méso-5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tri(tolyl)porphyrine ainsi obtenue avec l'acétate de 1-brométhyle en milieu DMF, K₂CO₃ (agitation pendant 15 heures à la température ambiante) et l'évaporation du solvant suivie d'une purification par chromatographie sur colonne, ont donné l'hybride porphyrine-acétate d'éthyle correspondant. La désestérification de ce produit intermédiaire a été effectuée avec de l'hydroxyde de sodium (DMF, 0 °C, agitation pendant 3 heures) et le produit 7b ainsi obtenu a été purifié par chromatographie sur colonne (alumine, CH₂Cl₂:C₂H₅OH, 9:1, en vol./vol.).

Du DCC (3 mg, 0,015 mmole) dans du CH₂Cl₂, anhydre (0,5 ml) a été ajouté goutte à goutte à un mélange sous agitation de taxol de formule 1 (7 mg, 0,008 mmole) de

produit 7b (8 mg, 0,01 mmole), de DMAP (0,5 mg, 0,004 mmole) et de tamis moléculaire (4A°) dans du CH_2Cl_2 anhydre (5 ml) sous azote moléculaire à 0 °C.



On a laissé le mélange réactionnel se réchauffer à la température ambiante, et on l'a agité pendant 14 heures. On a filtré le mélange réactionnel pour enlever le tamis moléculaire et le précipité de dicyclohexylurée. On a lavé le filtrat à l'eau, on l'a déshydraté sur du Na_2SO_4 anhydre et on l'a concentré. On a

purifié le résidu par chromatographie sur gel de silice en utilisant un mélange acétate d'éthyle/hexane (1:2, vol./vol.), ce qui a donné l'hybride porphyrine-taxol 9. Rendement : 7 mg, 54 %.

5 Pf. : 168-170 °C.

Spectre de masse (FAB) : m/z : $C_{96}H_{87}N_5O_{16}$ (1566,8) ; $M^+ = 156$.

Spectre infrarouge (pastille de KBr) : 3515, 3320, 2924, 1726, 1669, 1602, 1508, 1372, 1242, 1176, 1071, 966, 801, cm^{-1} .

10 UV-visible $(CH_2Cl_2)_{max}$, nm (log) : 233 (4,46), 516 (4,11), 552 (3,85), 593 (3,56), 649 (3,51).

1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$, TMS)_{ppm} : -2,78 (1, s, 2H NH), 1,15 (s, 3H, CH_3), 1,24 (s, 3H, CH_3), 1,71 (s, 3H, CH_3), 2,03 (s, 3H, CH_3), 2,18 (s, 3H, CH_3), 2,54 (s, 3H, CH_3), 2,71 (s, 9H,

15 arom- CH_3), 2,20-2,70 (m, 4H, 14a,b & 6-H), 3,87 (d, J=7Hz, 1H, 3-H), 4,23 et 4,35 (d, J=8,2Hz, 2H, C-20H₂), 4,50 (m, 1H, 7-H), 5,00 (1 d, 1H, 5-H), 5,03 (s, 2H, -OCH₂-), 5,71 (d, J=7Hz, 1H, 2-H), 5,75 (d, J=3Hz, 1H, 2'-H), 6,22 (d, J=3Hz, 1H, 3'-H), 6,33 (s, 1H, 10-H), 6,39 (t, 1H, 13-H),
20 6,90 (d, J=9Hz, 1H, NH), 7,23-7,71 (m, 21-H), 8,09 (d, J=8Hz, 8H), 8,18 (d, J=8Hz, 2H), 8,77-8,86 (m, 8H, H de -pyrrole).

Fluorescence $(CH_2Cl_2)_{max}$, nm (rendement quantique) : 652,717 (0,11).

Rendement quantique en oxygène singulet (DMF) : 0,59.

25

EXEMPLE 3

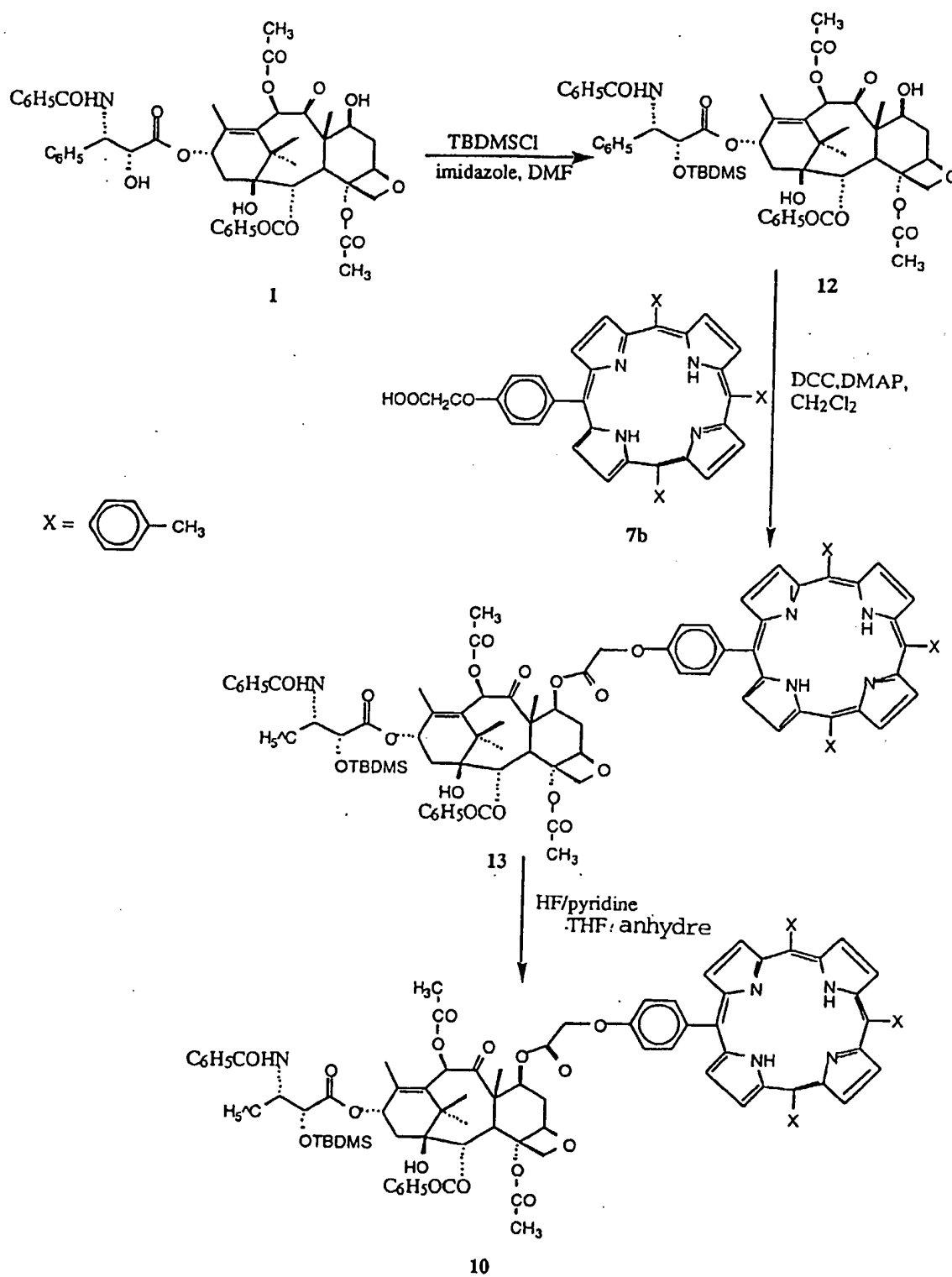
Synthèse de l'hybride porphyrine-taxol de formule 10 :

Le taxol protégé par un groupe silyle de formule 12 a été préparé par la réaction de taxol de formule 1 avec le chlorure de tétrabutyltriméthylammonium

30 (TBDMSCl) (caractérisation du composé 12 : spectre infrarouge (pastille de KBr) : 3513, 3439, 2932, 2859, 1740, 1726, 1667, 1512, 1485, 1372, 1244, 839, 781, 710 cm^{-1} 1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$, TMS) ppm : -0,27 (s, SiCH₃), -0,03 (s, 3H, SiCH₃), 0,81 (s, 9H, t^{Bu}), 1,15 (s, 3H, CH_3),
35 1,25 (s, 3H, CH_3), 1,70 (s, 3H, CH_3), 1,92 (s, 3H, CH_3),

2,24 (s, 3H, CH₃), 2,58 (s, 3H, CH₃), 1,85-2,50 (m, 4H, 14, et 6-H), 3,84 (d, J=7Hz, 1H, 3-H), 4,23 et 4,34 (d, d, J=8,4Hz, 2H, 20-H), 4,44 (1 t, 1H, 7-H), 4,67 (s, 1H, 2'-H), 4,99 (1 d, 1H, 5-H), 5,68-5,78 (m, 2H, 2 et 3'-H), 6,31
5 (s, 1H, 10-H), 6,20-6,33 (m, 1H, 13-H), 7,09 (d, J=9Hz, 1H, NH), 7,32-7,61 (m, 11H), 7,74 (d, J=7Hz, 2H), 8,15 (d, J=8Hz, 2H).

→



Le taxol protégé par un groupe silyle de formule 12 a été amené à réagir avec la porphyrine 7b dans les mêmes conditions que celles qui ont été décrites ci-dessus pour la préparation d'hybrides de formules 8 et 9, ce qui a donné l'hybride de porphyrine contenant du taxol protégé de formule 13 (caractérisation : spectre infrarouge (pastille de KBr) : 3320, 2926, 2855, 1744, 1726, 1669, 1605, 1510, 1472, 1372, 1236, 1177, 839, 801 cm^{-1} , ^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3 , TMS)_{ppm} : -2,76 (1 s, 2H, NH), -0,26 (s, 3H, SiCH₃), 0,01 (s, 3H, SiCH₃), 0,83 (s, 9H, t^{Bu}), 1,22 (s, 3H, CH₃), 1,27 (s, 3H, CH₃), 1,93 (s, 3H, CH₃), 2,06 (s, 3H, CH₃), 2,23 (s, 3H, CH₃), 2,62 (s, 3H, CH₃), 2,71 (s, 9H, arom-CH₃), 1,90-2,40 (m, 4H, 14, et 6-H), 4,06 (d, J=7Hz, 1H, 3-H), 4,27 et 4,40 (deux d, J=8,4Hz, 2H, 20-H), 4,73 (1 s, 1H, 2'-H), 4,84 et 5,12 (deux d, J=16Hz, 2H, -OCH₂-), 5,00 (1 d, 1H, 5-H), 5,75-5,91 (m, 3H, 2,7, 3'-H), 6,27-6,31 (m, 13-H), 6,39 (s, 1H, 10-H), 7,12 (d, J=8Hz, 1H, NH), 7,32-7,64 (m, 19-H), 7,72 (d, J=7Hz, 2H), 8,08-8,18 (m, 10H), 8,86 (s, 8H, H de b-pyrrole)).

La porphyrine contenant du taxol protégé de formule 13 (17 mg, 0,01 mmole) a été dissoute du THF anhydre (3 ml), et cette solution a été additionnée goutte à goutte de HF.pyridine à 25 °C. Le mélange réactionnel a été agité pendant 4 heures et lavé avec de l'eau et une solution de sel, déshydraté sur du Na₂SO₄ anhydre et concentré. Le résidu a été purifié par chromatographie sur gel de silice avec utilisation d'un mélange acétate d'éthyle-hexane (1:2, vol./vol.), ce qui a donné l'hybride porphyrine-taxol 11. Rendement : 12 mg (76 %).

Pf. : 229-231 °C.

Spectre de masse (FAB) : m/z : C₉₆H₈₇N₅O₁₆ (1566,8) ; M⁺ = 1566.

Spectre infrarouge (pastille de KBr) : 3410, 3318, 2924, 1742, 1728, 1665, 1603, 1510, 1236, 1177, 1069, 968, 801, 708 cm^{-1} .

UV-visible (CH_2Cl_2)_{max}, nm (log) : 235 (4,36), 420 (5,49), 517 (4,04), 552 (3,77), 593 (3,45), 648 (3,39).

^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3 , TMS)_{ppm} : -2,77 (1 s, 2H NH), 1,22 (s, 3H, CH_3), 1,26 (s, 3H, CH_3), 1,92 (s, 6H, 2 CH_3), 2,24 (s, 3H, CH_3), 2,42 (s, 3H, CH_3), 2,71 (s, 9H, arom- CH_3), 1,80-2,40 (m, 4H, 14, et 6-H), 3,64 (d, $J=4,6\text{Hz}$, 1H, 2'-OH), 4,00 (d, $J=7\text{Hz}$, 1H, 3-H), 4,24 et 4,37 (d, d, $J=8,4\text{Hz}$, 2H, 20-H), 4,84 (1 s, 1H, 2'-H), 5,02 (1 d, 1H, 5-H), 4,84 et 5,12 (d, d, $J=16\text{Hz}$, 2H, $-\text{OCH}_2-$), 5,71-5,86 (m, 3H, 2,7 et 3'-H), 6,23 (t, 1H, 13-H), 6,34 (s, 1H, 10-H), 7,09 (d, $J=9\text{Hz}$, 1H, NH), 7,31-7,65 (m, 19-H), 7,79 (d, $J=7\text{Hz}$, 2H), 8,08-8,16 (m, 10H), 8,86 (s, 8H, H de -pyrrole).

Fluorescence (CH_2Cl_2)_{max}, nm (rendement quantique) : 652,717 (0,14).

15 Rendement quantique en oxygène singulet (DMF) : 0,62.

EXEMPLE 4

Synthèse de l'hybride porphyrine-baccatine de formule 11 :

On a ajouté goutte à goutte du DCC (3 mg, 0,015 mmole) dans du CH_2Cl_2 anhydre à un mélange sous agitation de baccatine III de formule 6 (5 mg, 0,009 mmole), du produit 7b (9 mg, 0,012 mmole), de DMAP (0,5 mg, 0,004 mmole) et de tamis moléculaire (4A°) dans du CH_2Cl_2 anhydre (3 ml), sous azote moléculaire, à 25 °C. Le mélange réactionnel a été agité pendant 22 heures, filtré et déshydraté sur du Na_2SO_4 anhydre, et concentré. Le résidu a été purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant un mélange acétate d'éthyle-hexane (1:2, en vol./vol.), ce qui a donné le conjugué porphyrine-baccatine 11.

30 Rendement : 5 mg, 45 %.

Pf. : 228-230 °C.

Spectre de masse (FAB) : m/z : $\text{C}_{80}\text{H}_{74}\text{N}_4\text{O}_{13}$ (1299,5) ; $M' = 1299$.

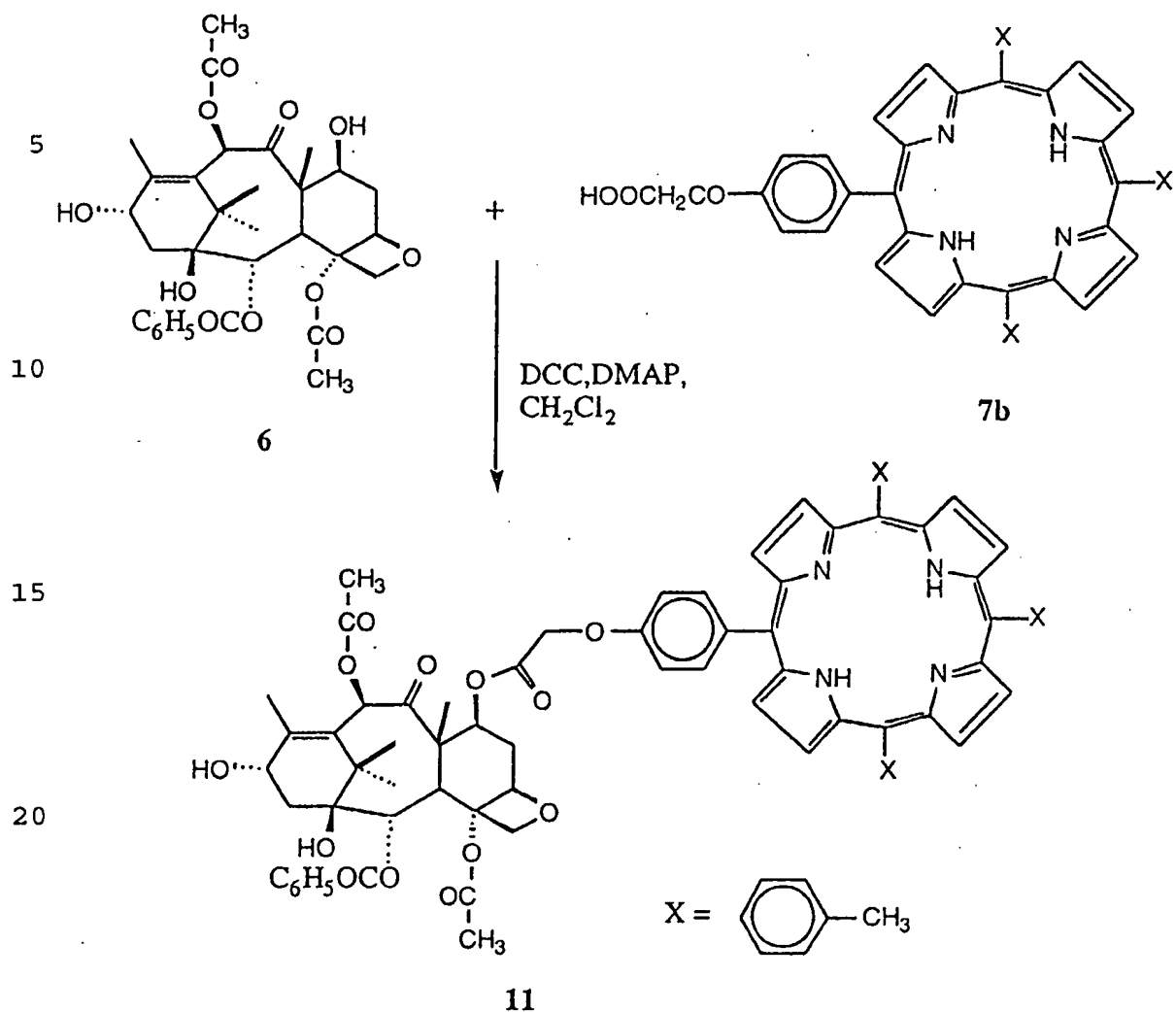
Spectre infrarouge (pastille de KBr) : 3520, 3322, 2924, 1744, 1723, 1605, 1509, 1472, 1370, 1236, 1177, 1071, 966, 801 cm^{-1} .

UV-visible (CH_2Cl_2)_{max}, nm (log) : 233 (4,33), 420 (5,50),
5 517 (4,07), 552 (3,81), 592 (3,48), 649 (3,47).

^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3 , TMS)_{ppm} : -2,76 (1, s, 2H, NH), 1,11 (s, 3H, CH_3), 1,18 (s, 3H, CH_3), 1,89 (s, 3H, CH_3), 2,18 (s, 3H, CH_3), 2,24 (s, 3H, CH_3), 2,32 (s, 3H, CH_3), 2,00-2,40 (m, 4H, 14a, b et 6-H), 2,71 (s, 9H, arom- CH_3), 4,08 (d, 10 J=7Hz, 1H, 3-H), 4,19 et 4,38 (d, d, J=8,3Hz, 2H, 20-H), 4,84 et 5,13 (d, d, J=16Hz, 2H, $-\text{OCH}_2-$), 4,80-5,06 (d, 2H, 5 et 13-H), 5,67 (d, J=7Hz, 2-H), 5,86 (t, 1H, 7-H), 6,38 (s, 1H, 10-H), 7,34 (d, J=8,5Hz, 2H), 7,54-7,57 (m, 9H), 8,08-8,14 (m, 10H), 8,86 (s, 8H, H de -pyrrole).

15 Fluorescence (CH_2Cl_2)_{max}, nm (rendement quantique) : 652,717 (0,12).

Rendement quantique en oxygène singulet (DMF) : 0,60.



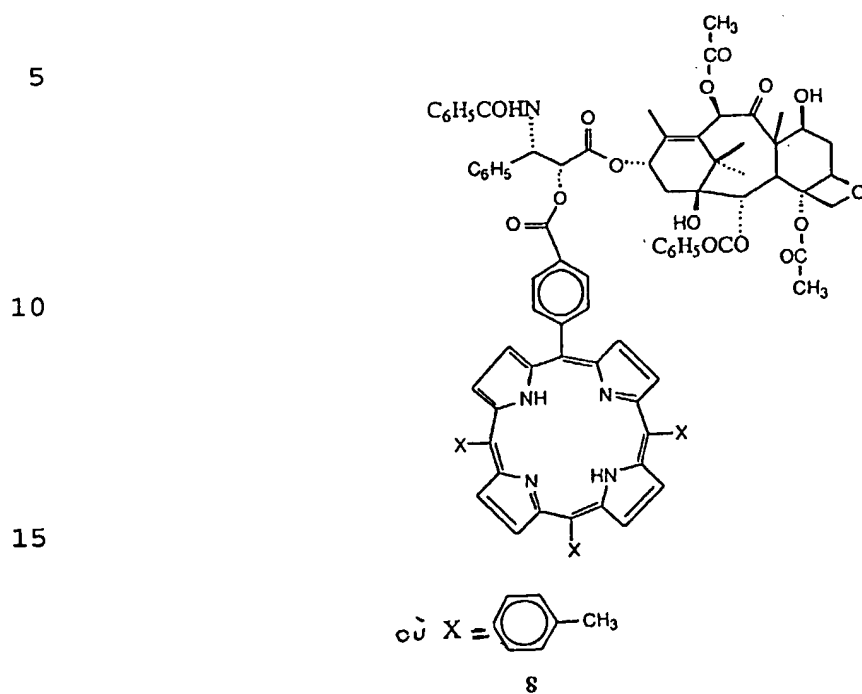
AVANTAGES DE L'INVENTION

Les hybrides nouveaux de la présente invention sont utiles pour le traitement du cancer et d'affections apparentées, à la fois par chimiothérapie et par thérapie photodynamique. Dans le contexte actuel, ces hybrides sont particulièrement utiles contre de nombreux types de

cancers, comprenant ceux qui sont ordinairement traités par le taxol, de même que par des agents de PDT à base de porphyrine. Ces molécules nouvelles de la présente invention, tout en permettant la poursuite de la thérapie classique sous la médiation de médicaments chimiothérapeutiques en présence ("éclairage") et en l'absence ("non-éclairage") de lumière, permettent à la condition thérapeutique photodynamique de prévaloir lors de l'irradiation dans les bandes d'absorption de l'agent photosensibilisateur avec la lumière visible. On s'attend donc à ce que des effets synergiques envers l'éradication de tumeurs prédominent au cours de la période d'irradiation. En outre, ces matières nouvelles affinent l'aptitude de la porphyrine à diriger la cellule/le tissu cancéreux en raison de sa conjugaison au taxol qui, d'autre part, est reconnue pour son aptitude à se localiser dans le domaine riche en tubuline du tissu cancéreux. Enfin, comme décrit ci-dessus, des hybrides nouveaux peuvent être aisément préparés en des rendements raisonnablement bons en un maximum de trois à quatre étapes à partir des matières de départ faciles à obtenir. Chaque molécule hybride nouvelle préparée par le procédé de la présente invention s'est montrée stable pendant plus d'un an lorsqu'elle a été stockée dans un récipient de couleur ambrée à 6-7 °C dans un réfrigérateur ordinaire de laboratoire.

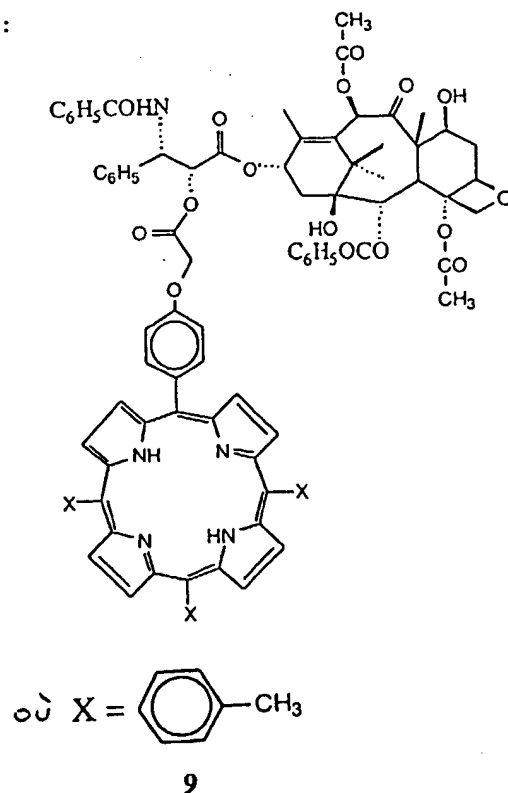
REVENDICATIONS

1. Composé, caractérisé en ce qu'il répond à la formule :

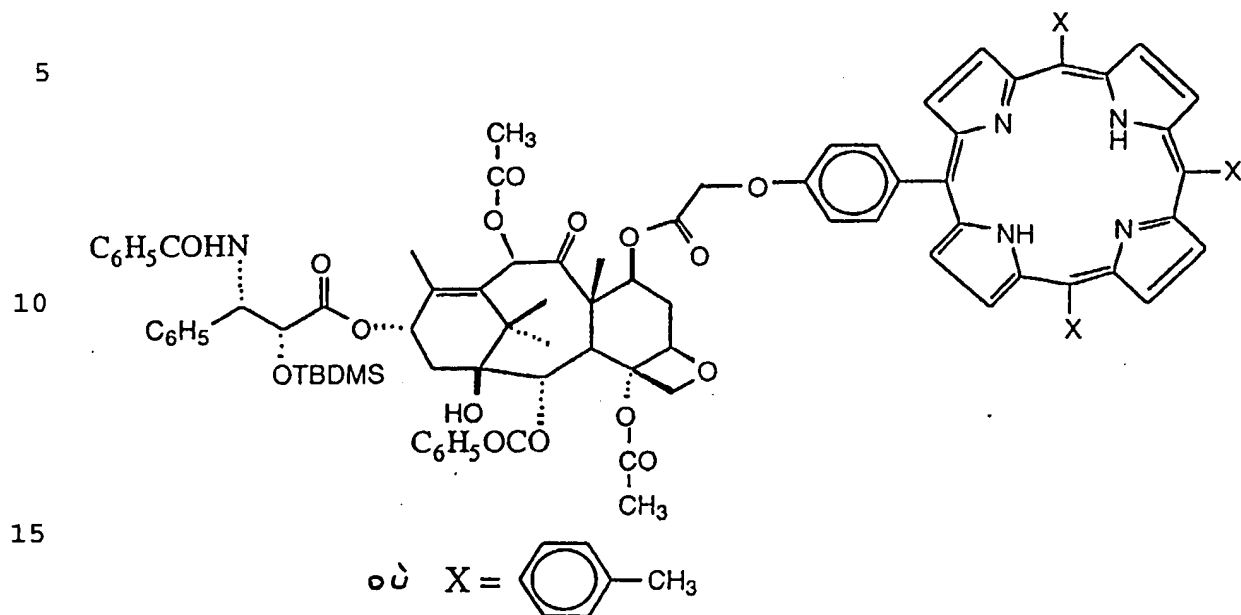


20

2. Composé, caractérisé en ce qu'il répond à la formule :

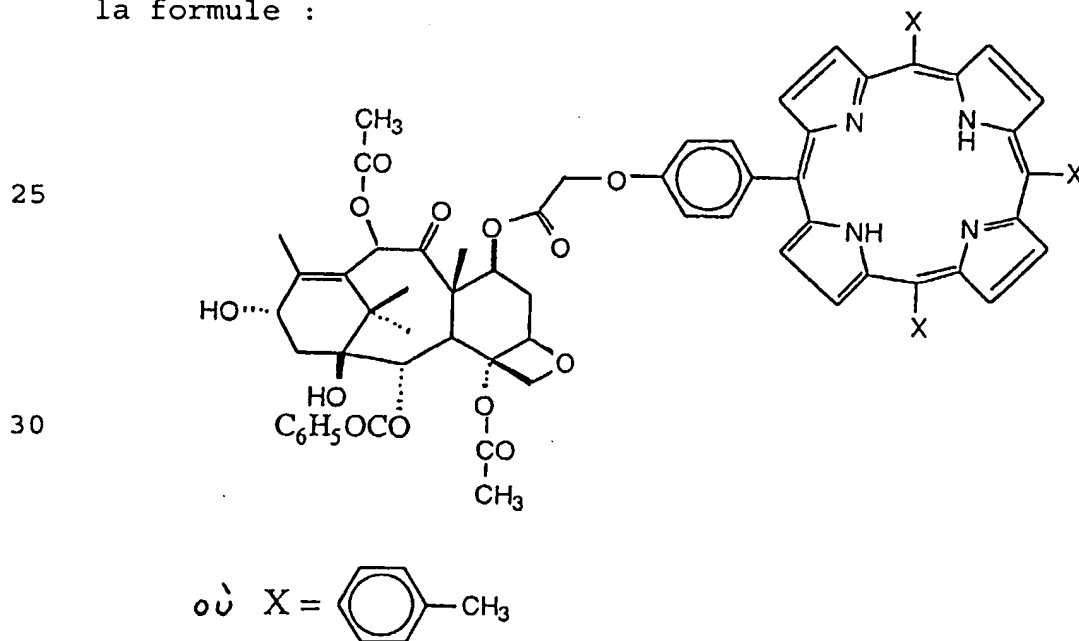


3. Composé, caractérisé en ce qu'il répond
à la formule :



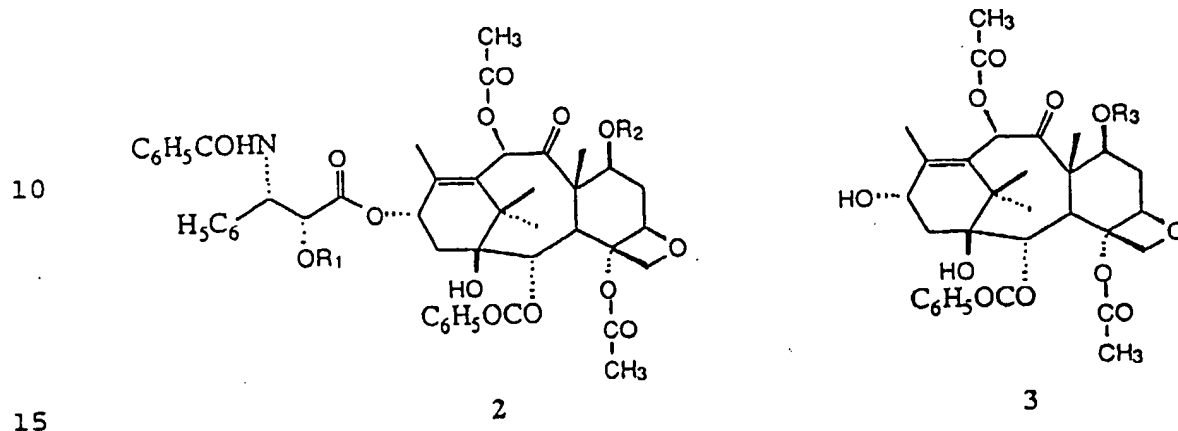
10

20 4. Composé, caractérisé en ce qu'il répond à
la formule :



35

5. Procédé de production de molécules hybrides d'un photosensibilisateur et d'un agent chimiothérapeutique de formules 2 et 3 suivantes, qui sont utiles pour la chimiothérapie et la thérapie photodynamique contre le cancer et des affections apparentées :



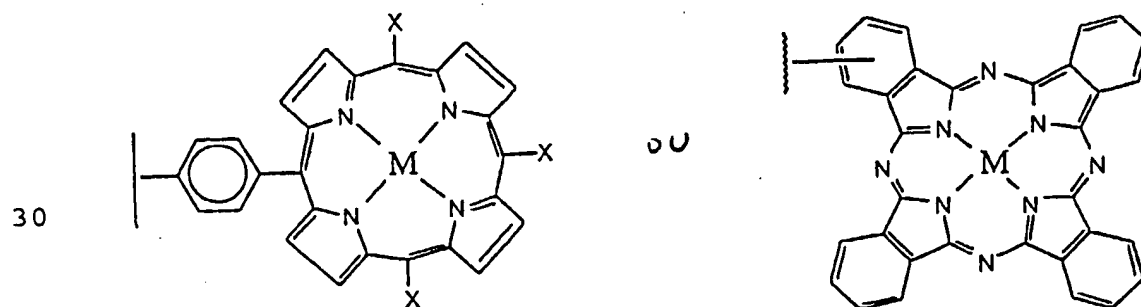
formules dans lesquelles

R₁ représente un groupe -CO-O-P, -OCH₂CO-O-P, -O(CH₂)₂CO-O-P et

20 R, représente H, OU BIEN

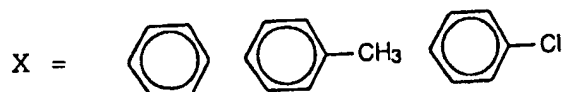
R₁ représente H, et R₂ représente un groupe -CO-O-P, -OCH₂CO-O-P, -O(CH₂)₂CO-O-P et

R₁ représente aussi -CO-O-P, -OCH₂CO-O-P, -O(CH₂)₂CO-O-P,
P pouvant représenter dans tous les cas



35

où



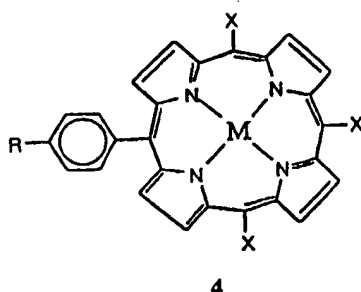
5



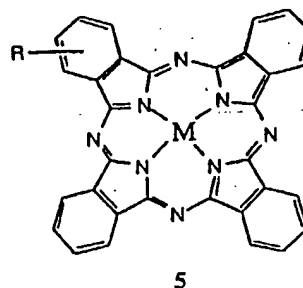
et M = Zn(II), Al(III)Cl, Sn(IV)Cl₂

procédé caractérisé en ce qu'il comprend la réaction de
10 photosensibilisateurs de formules générales 4 et 5

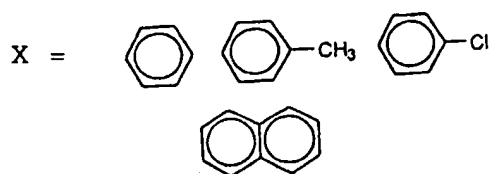
15



et



dans lesquelles R représente un groupe COOH, OCH₂COOH ou
20 O(CH₂)₂COOH, et



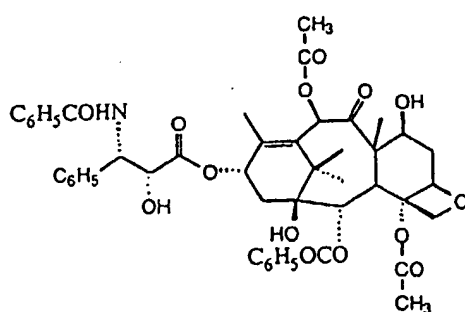
25

et M = Zn(II), Al(III)Cl, Sn(IV)Cl₂,

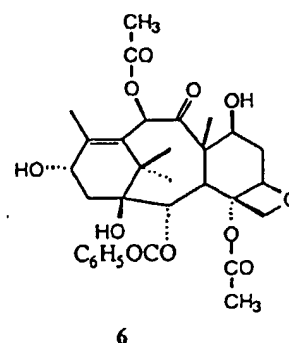
et d'agents chimiothérapeutiques de formules générales 1 et

6

30

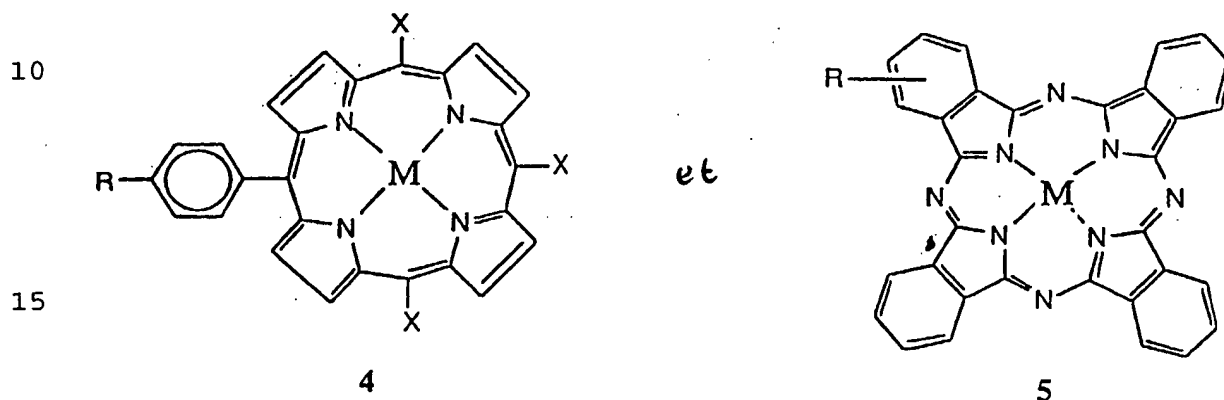


35

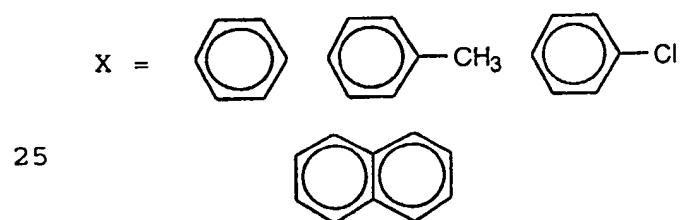


en présence d'un solvant polaire anhydre ou d'un mélange de
tels solvants, à une température comprise dans la plage de
0 à 120 °C, sous agitation constante, et la séparation par
des opérations classiques des molécules hybrides ainsi
5 formées.

6. Procédé suivant la revendication 5,
caractérisé en ce que le photosensibilisateur utilisé est
choisi entre les formules 4 et 5

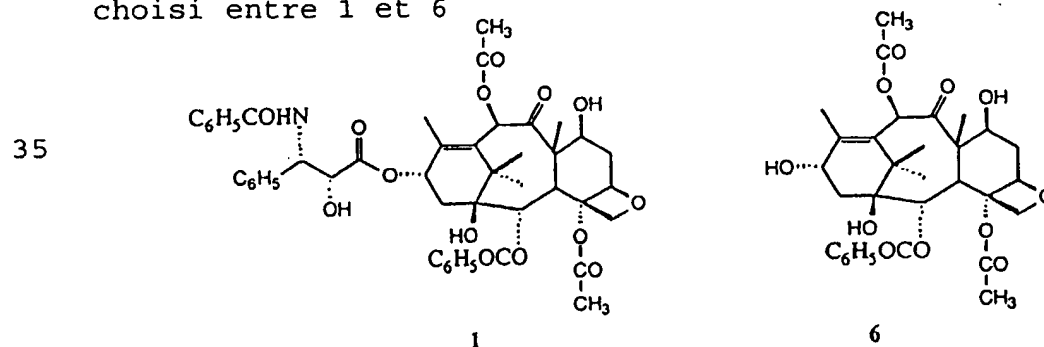


20 dans lesquelles R représente COOH , OCH_2COOH ou $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$,
et



et $\text{M} = \text{Zn(II)}$, Al(III)Cl , Sn(IV)Cl_2 .

30 7. Procédé suivant la revendication 5 ou 6,
caractérisé en ce que le médicament chimiothérapeutique est
choisi entre 1 et 6



8. Procédé suivant l'une des revendications 5 à 7, caractérisé en ce que la liaison $-C=O$, $(CH_2)_2C=O$, $(CH_2)_3C=O$ est affectée aux groupes hydroxy dans les positions 2' et 7 du squelette de taxol de formule 1.

5 9. Procédé suivant l'une des revendications 5 à 8, caractérisé en ce que le taxol/la baccatine est protégé par des groupes classiques avant la réaction avec le photosensibilisateur.

10 10. Procédé suivant l'une des revendications 5 à 9, caractérisé en ce qu'on utilise des solvants anhydres tels que le diméthylformamide, le chlorure de méthylène, l'acétonitrile, le chloroforme ou des mélanges de ces solvants.

15 11. Procédé suivant l'une des revendications 5 à 10, caractérisé en ce qu'on utilise des additifs tels que le dicyclohexylcarbodiimide (DCC), la diméthylaminopyridine (DMAP), le K_2CO_3 , dans la réaction en vue d'un couplage efficace des liaisons.

20 12. Procédé suivant l'une des revendications 5 à 11, caractérisé en ce qu'on effectue la séparation des molécules hybrides formées dans la réaction par l'une quelconque ou plusieurs des opérations classiques telles que chromatographie sur colonne, distillation, chromatographie sur couche mince, recristallisation.

25 13. Procédé suivant l'une des revendications 5 à 12, caractérisé en ce qu'une métalloporphyrine ou une métallophthalocyanine est utilisée comme photosensibilisateur.

30 14. Procédé de production de molécules hybrides nouvelles de formules 8-11, qui sont utiles pour une application chimiothérapique et photodynamique collatérales dans le traitement du cancer et d'affection apparentées :

42

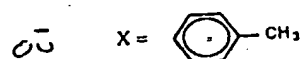
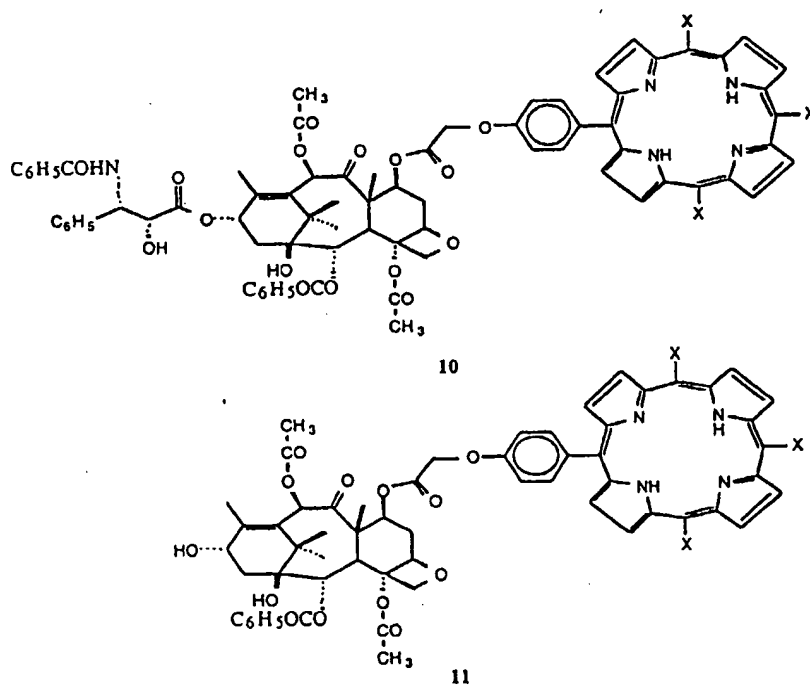
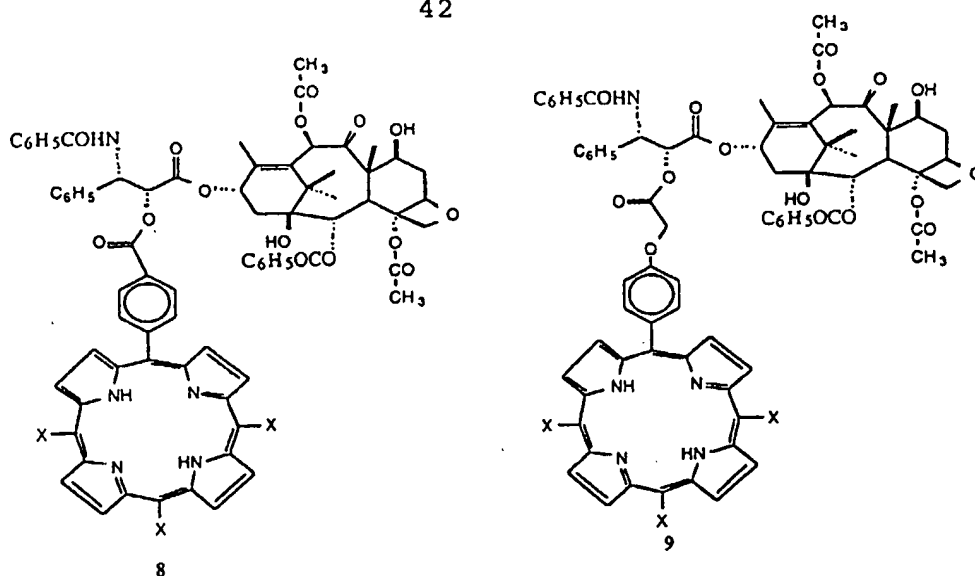
5

10

15

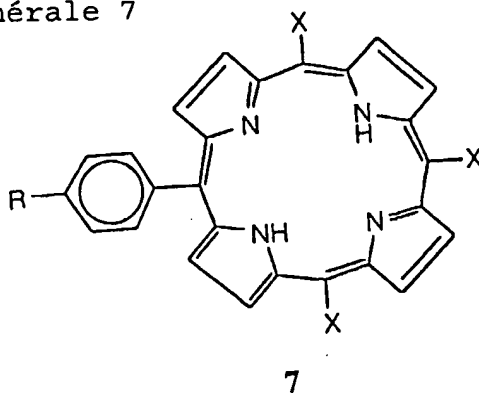
20

25



procédé qui comprend la réaction des porphyrines répondant
à la formule générale 7

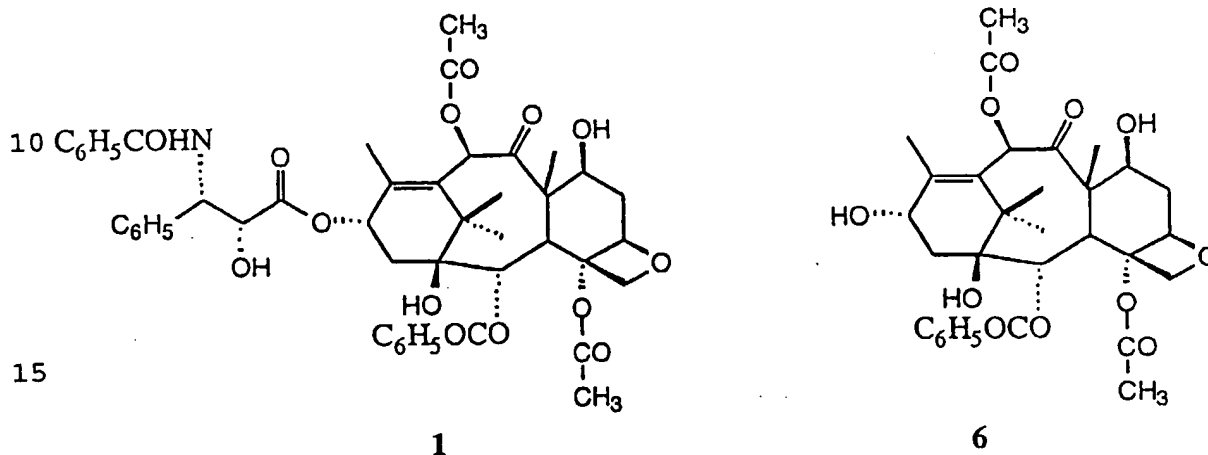
35



dans laquelle R représente COOH , OCH_2COOH ou $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ et



5 avec le taxol et la baccatine de formules respectives 1 et 6



20 en présence d'un solvant polaire anhydre ou d'un mélange de tels solvants, à une température comprise dans la plage de 0 à 120 °C, sous agitation constante, et la séparation par des opérations classiques des molécules hybrides formées.

15. Composé selon l'une des revendications 1 à 4, pour son utilisation dans une méthode de traitement 25 thérapeutique du corps humain ou animal.

16. Utilisation d'une molécule hybride de formule générale 8, 9, 10 ou 11, telle que définie dans la revendication 1, 2, 3 ou 4, pour la fabrication d'un médicament destiné à une application collatérale de 30 chimiothérapie classique et de thérapie photodynamique (PDT) contre le cancer et des affections apparentées.